DOI:10.16016/j.1000-5404.201510061

细胞色素 P450 基因多态性对围绝经期妇女潮热易感性的影响

张巧利[1],张丽娟[2],李 芬[3] (100026 北京,首都医科大学附属北京妇产医院:生殖医学科[1],妇科[2];710061 西安,西安交通大学第一附属医院妇幼保健中心[3])

[摘要] **目的** 研究性激素水平及雌激素代谢酶相关基因细胞至色素 P450(cytochrome P450,CYP)多态性对围绝经期妇女潮热易感性的影响。**方法** 选取 2006 年 10 月至 2008 年 5 月西安交通大学第一附属医院体检中心进行健康体检的 328 名围绝经期妇女进行病例对照研究,将其分为潮热组($n=156$)和无潮热组($n=172$)。采用放免法测定血清卵泡刺激素(follicle stimulating hormone,FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone,LH)、雌二醇(estradiol,E_2)和睾酮(testosterone,T),酶免法测定性激素结合球蛋白(sex hormone binding globulin,SHBG)和硫酸脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone sulfate,DHEA-S)。应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性方法分析两组妇女 CYP17 MspA1 Ⅰ、CYP19 RsaI、CYP1A1 MspI 和 CYP1B1 Eco57I 基因多态性。**结果** 与无潮热组妇女比较,潮热组妇女血清 FSH 水平增高($P<0.01$),而 E_2 和 SHBG 水平降低($P<0.05$)。CYP1B1 Eco57I 基因多态性在潮热组和无潮热组妇女中的分布差异有统计学意义($P<0.05$);携带 CYP1B1 Eco57I 基因多态性的妇女潮热发生的风险为未携带妇女的 1.25 倍($OR=1.25$,95% CI:1.03~1.82);中重度潮热发生及潮热持续时间 >1 年的风险分别为未携带妇女的 1.28 倍和 1.35 倍。**结论** 血清 E_2 水平降低可能是潮热发生的原因之一。CYP1B1 Eco57I 基因多态性增加妇女潮热发生、潮热程度和持续时间的风险。

[关键词] 围绝经期;潮热;雌激素;细胞色素 P450;基因多态性
[中图法分类号] R228;R394.1;R722.51 [文献标志码] A

Effect of estrogen metabolic enzyme cytochrome P450 gene polymorphism on susceptibility of hot flashes in perimenopause women

Zhang Qiaoli[1], Zhang Lijuan[2], Li Fen[3] ([1]Department of Human Reproductive Medicine, [2]Department of Gynecology, Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100026; [3]Center of Maternal and Child Health, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaan'xi Province, 710061, China)

[**Abstract**] **Objective** To explore the pathogenesis of hot flashes, and study the correlation of polymorphism of estrogen metabolic enzyme cytochrome P450 (CYP) gene and hot flashes in the perimenopause women. **Methods** Totally 328 perimenopausal women were selected randomly for case-control study, including 156 women with hot flashes in the case study group and 172 women without hot flashes in the control group. Follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E_2) and testosterone (T) were detected by radioimmunoassay. Sex hormone binding globulin (SHBG) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) were detected by enzyme linked immunosorbent assay. The gene polymorphisms of CYP17 MspA1 Ⅰ, CYP19 RsaI, CYP1A1MspI and CYP1B1 Eco57I were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). **Results** The level of FSH was statistically higher, but the levels of E_2 and SHBG were statistically lower in the women with hot flashes compared to the women without hot flashes (all $P<0.05$). The CYP1B1 Eco57I genotype was statistically significant between the women with hot flashes and the women without hot flashes ($P<0.05$).

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金(81302441)
[通信作者] 李 芬,E-mail:lifen418@126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160201.1431.004.html(2016-02-01)

The women with CYP1B1 Eco57I polymorphism were 1.25 folds in the hot flashes risk (OR = 1.25, 95% CI = 1.03 ~ 1.82), 1.28 folds in the severity and 1.35 folds in the duration (persisted for a year or longer) compared to the women without hot flashes. **Conclusion** Low E_2 level may be one of the reasons for hot flashes. Women with CYP1B1 Eco57I polymorphism are more likely to have hot flashes with high severity and long duration.

[**Key words**] perimenopause; hot flashes; estrogen; cytochrome P450; genetic polymorphism

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81302441). Corresponding author: Li Fen, E-mail: lifen418@126.com

我国每年新增更年期妇女500万,而受绝经相关症状和疾病困扰的人数达到800万[1],其中最常见的更年期症状包括潮热[2],越来越多的更年期妇女因为潮热的困扰到医院寻求治疗。目前,潮热的发病机制尚未完全阐明,妇女进入围绝经期后随着卵巢功能的衰退,内分泌发生了很大变化,雌激素水平的降低可能参与了潮热的发生。细胞色素P450(cytochrome P450,CYP)参与雌激素代谢,多种CYP是雌激素代谢过程中的关键酶[3-4]。机体细胞在复制过程中可能发生基因突变,会导致同种CYP表现出多态性,在人类表现为CYP基因的遗传多态性,所以每一个体的CYP酶活性均有差异,这就决定了每个人在疾病易感性上的差异。目前研究较多的是CYP与癌症的关系[5],但它是否与围绝经期妇女潮热易感性有关尚不清楚。本研究探讨CYP的多态性及性激素水平与潮热的关系,以期进一步阐述围绝经期妇女潮热的发生机制。

1 资料与方法

1.1 研究对象

采用病例对照研究,选择2006年10月至2008年5月在西安交通大学第一附属医院体检中心进行健康体检的328名40~60岁围绝经期妇女作为研究对象,其中156名妇女有潮热症状为潮热组(病例组);172名妇女无潮热症状为无潮热组(对照组)。所有研究对象均有完整的子宫和卵巢,未妊娠,未接受放疗与化疗,无内分泌疾病,近3个月内未行激素替代治疗或口服避孕药;排除已绝经的妇女,排除生殖系统肿瘤,心、肝、肾等严重器质性疾病及内分泌相关疾病患者。

1.2 潮热症状的确定标准

目前确定妇女有无潮热主要是凭借其主观感觉。潮热被定义为妇女突然感到面颈部与胸部皮肤强烈发热甚至大量出汗,这些部位的皮肤可有弥散性或片状发红,同时伴有焦虑、易怒、恐慌,之后机体表皮血管舒张体温随之下降[6]。

1.3 潮热程度的分类

潮热的程度可分为3度[7]:轻度潮热,即仅有热感但无出汗;中度潮热,即热感伴有出汗;重度潮热,即热感伴有出汗,影响日常生活。

1.4 血样标本的收集

全部研究对象有月经者于早卵泡期(月经周期第2~5 d)采血,闭经3个月至1年以内者任意时间采血。于清晨8:30-11:00,采集空腹外周血,血样放置于-70 ℃冰箱冻存待测。

1.5 血清性激素的检测

采用液相平衡竞争放射免疫分析法(radioimmunoassay, RIA)(试剂盒购自天津市九鼎医学生物工程有限公司)检测妇女血清卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteinizing hormone,LH)、雌二醇(estradiol, E_2)和睾酮(testosterone,T)。应用酶免法(试剂盒购自美国NovaTec公司)测定性激素结合球蛋白(sex hormone binding globulin, SHBG)和硫酸脱氢表雄酮(dehydroepian-drosterone sulfate, DHEA-S)。

1.6 CYP基因多态性的检测

全血标本按DNA提取试剂盒(北京TIANGEN生化科技有限公司)说明书提取外周血DNA。应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)方法进行检测。CYP基因引物序列及PCR产物长度见表1,由北京奥科生物技术有限责任公司合成引物。

表1 CYP基因引物序列

基因	引物	扩增片段长度(bp)
CYP17	上游:5′-CATTCGCACCTCTGGAGTC-3′	459
	下游:5′-GGCTCTTGGGGTACTTG-3′	
CYP19	上游:5′-AGTAACACAGAACAGTTGCA-3′	188
	下游:5′-CCAGACTCGCATGAATTCTCCGTA-3′	
CYP1A1	上游:5′-CAGTGAAGAGGTGTAGCCGC-3′	340
	下游:5′-TAGGAGTCTTGTCTCATGCC-3′	
CYP1B1	上游:5′-CTGCCAACACCTCTGTCTTG-3′	271
	下游:5′-CTGAAATCGCACTGGTGAGC-3′	

4种CYP基因PCR扩增反应体系均为25 μL(2×PCR混合物12.5 μL,双蒸水8.5 μL,各引物量为0.1 μL,浓度1.0 μmol/L,DNA模板2 μL,浓度为

100 μg/μL)。CYP17、CYP19、CYP1A1 和 CYP1B1 基因 PCR 扩增产物分别采用 *Msp*A1Ⅰ、*Rsa*Ⅰ、*Msp*Ⅰ和 *Eco*57Ⅰ限制性内切酶进行处理。PCR 扩增产物用2%琼脂糖凝胶电泳,采用凝胶成像系统进行检测。

1.7　统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计软件,人类基因型采用 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验。t 和 χ^2 检验比较潮热组和非潮热组的一般情况,两组各基因型的频率分布比较应用 χ^2 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准。应用 *OR* 和 95% *CI* 表示相对危险度。

2　结果

2.1　潮热组和无潮热组妇女的一般情况

潮热组妇女的平均年龄、文化程度和婚姻状况构成情况均与无潮热组妇女差异无统计学意义($P>0.05$)。有潮热症状的围绝经期妇女 156 例,其中轻度潮热 81 例,中度潮热 50 例,重度潮热 25 例。

2.2　潮热组和无潮热组妇女激素水平的比较

潮热组妇女 E_2 和 SHBG 水平低于无潮热组妇女,FSH 水平高于无潮热组妇女,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组间 LH、T 和 DHEA-S 水平无明显差异($P>0.05$,表2)。

2.3　潮热组和无潮热组妇女 CYP 基因多态性分析

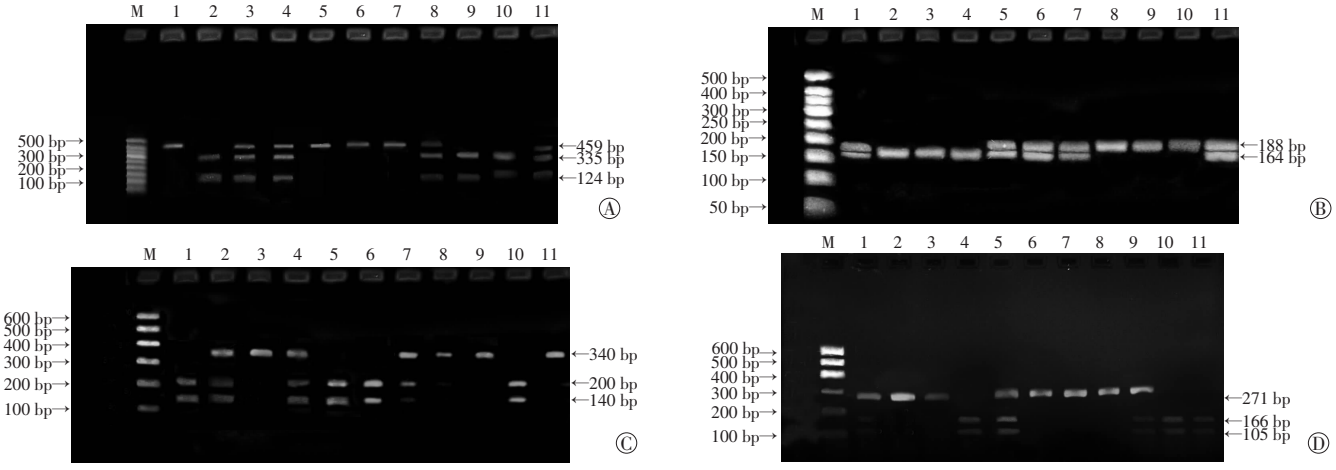
在潮热和无潮热组妇女中均可见 CYP17 *Msp*A1Ⅰ、CYP19 *Rsa*Ⅰ、CYP1A1 *Msp*Ⅰ和 CYP1B1 *Eco*57Ⅰ四种基因被相应进行酶切后可呈现三种基因型,即 A_1/A_1,A_1/A_2 和 A_2/A_2(图1)。两组四种 CYP 基因的基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律。潮热组 CYP17 *Msp*A1Ⅰ、CYP19 *Rsa*Ⅰ和 CYP1A1 *Msp*Ⅰ基因的基因型频率分布与对照组差异无统计学意义($P>0.05$);但潮热组 CYP1B1 *Eco*57Ⅰ基因的基因型频率分布与对照组差异有统计学意义($P<0.05$,表3)。

2.4　CYP 基因型与潮热风险的相关性

在所研究的 CYP17、19、1A1 和 1B1 四种基因型中,携带 CYP1B1 基因多态性的妇女潮热发生风险是未携带该型多态性妇女的 1.25 倍(*OR* = 1.25,95% *CI*:1.03~1.82);其他三种基因多态性未发现与潮热有关(表4)。

表2　潮热组和无潮热组妇女性激素水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	FSH (IU/L)	LH (IU/L)	E_2 (pg/mL)	T (ng/mL)	DHEA-S (ng/mL)	SHBG (ng/mL)
潮热组	156	58.9±10.2	39.4±9.2	48.3±11.2	0.43±0.12	354.7±20.7	50.6±7.8
无潮热组	172	45.3±9.6	34.9±8.9	62.6±15.6	0.45±0.15	367.9±30.2	59.1±9.2
t 值		52.473	−0.871	9.423	−1.289	1.265	9.563
P 值		0.009	0.385	0.036	0.200	0.212	0.038



A:M 为 DNA 标准;1、5、6、7 为 A_1/A_1 型;2、9、10 为 A_2/A_2 型;3、4、8、11 为 A_1/A_2 型;B:M 为 DNA 标准;8、9、10 为 A_1/A_1 型;2、3、4 为 A_2/A_2 型;1、5、6、7、11 为 A_1/A_2 型;C:M 为 DNA 标准;3、8、9、11 为 A_1/A_1 型;1、5、6、10 为 A_2/A_2 型;2、4、7 为 A_1/A_2 型;D:M 为 DNA 标准;2、3、6、7、8 为 A_1/A_1 型;4、10、11 为 A_2/A_2 型;1、5、9 为 A_1/A_2 型

图1　2%琼脂糖凝胶电泳检测 CYP17(A)、CYP19(B)、CYP1A$_1$(C)、CYP1B1(D)分别由限制性内切酶 *Msp*Ⅰ、*Rsa*Ⅰ、*Msp*Ⅰ、*Eco*57Ⅰ的酶切产物

表 3 潮热组和无潮热组妇女 CYP 基因多态性分析[例(%)]

组别	*n*	CYP17 *Msp*A1 Ⅰ			CYP19 *Rsa* Ⅰ			CYP1A1 *Msp* Ⅰ			CYP1B1 *Eco*57 Ⅰ		
		A_1/A_1	A_1/A_2	A_2/A_2	A_1/A_1	A_1/A_2	A_2/A_2	A_1/A_1	A_1/A_2	A_2/A_2	A_1/A_1	A_1/A_2	A_2/A_2
潮热组	156	45(28.7)	71(45.6)	40(25.7)	59(37.8)	68(43.6)	29(18.6)	48(30.8)	81(51.9)	27(17.3)	56(35.9)	68(43.5)	32(20.6)
无潮热组	172	50(29.1)	73(42.5)	49(28.4)	62(36.1)	72(41.8)	38(22.1)	56(32.6)	80(46.5)	36(20.9)	35(20.3)	96(55.8)	41(23.9)
χ^2值		0.422			0.619			1.476			7.873		
P 值		0.810			0.734			0.478			0.020		

表 4 CYP 基因型与潮热风险的关系(例)

组别	*n*	CYP17 *Msp*A1 Ⅰ		CYP19 *Rsa* Ⅰ		CYP1A1 *Msp* Ⅰ		CYP1B1 *Eco*57 Ⅰ	
		A_1/A_1	A_1/A_2 或 A_2/A_2	A_1/A_1	A_1/A_2或 A_2/A_2	A_1/A_1	A_1/A_2或 A_2/A_2	A_1/A_1	A_1/A_2或 A_2/A_2
潮热组	156	45	111	59	97	48	108	56	35
无潮热组	172	50	122	62	110	56	116	100	137
OR		1.00	1.16	1.00	0.92	1.00	1.08	1.00	1.25
95% *CI*		0.83~1.42		0.75~1.19		0.88~1.37		1.03~1.82	

表 5 CYP 基因型与潮热程度、频率和持续时间的关系

基因型	中重度潮热		至少 1 次/周		持续时间 >1 年	
	例数	*OR*(95% *CI*)	例数	*OR*(95% *CI*)	例数	*OR*(95% *CI*)
CYP17 *Msp*A1 Ⅰ基因						
A_1/A_1	31	1.00	25	1.00	41	1.00
A_1/A_2或 A_2/A_2	44	0.85(0.69~1.27)	35	0.93(0.78~1.25)	45	0.92(0.72~1.18)
CYP19 *Rsa* Ⅰ基因						
A_1/A_1	36	1.00	22	1.00	39	1.00
A_1/A_2或 A_2/A_2	39	1.15(0.89~1.38)	38	1.06(0.84~1.36)	47	0.96(0.78~1.32)
CYP1A1 *Msp* Ⅰ基因						
A_1/A_1	25	1.00	27	1.00	36	1.00
A_1/A_2或 A_2/A_2	50	1.09(0.76~1.28)	33	1.20(0.86~1.37)	50	1.05(0.81~1.34)
CYP1B1 *Eco*57 Ⅰ基因						
A_1/A_1	27	1.00	22	1.00	33	1.00
A_1/A_2或 A_2/A_2	48	1.28(1.06~1.75)	38	1.10(0.85~1.43)	53	1.35(1.08~1.72)

2.5 CYP 基因型与潮热程度、频率和持续时间的相关性

在所研究的 156 名潮热妇女中,轻度潮热 81 例,中重度潮热 75 例;60 名妇女潮热发生至少 1 次/周,86 名妇女潮热持续时间 >1 年。在所研究的 CYP17、19、1A1 和 1B1 4 种基因型中,CYP1B1 多态性的妇女发生中重度潮热的风险为无 CYP1B1 多态性妇女的 1.28 倍,CYP1B1 多态性的妇女潮热持续时间 >1 年为无 CYP1B1 多态性妇女的 1.35 倍(表 5)。

3 讨论

妇女潮热的发生是由于下丘脑的体温调节中枢失调所导致,在这一过程中很多因素发挥了作用,其中包括垂体激素、激素相关因子、促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone, GnRH)及中枢神经通路。有学者认为雌激素能够有效治疗潮热[8-9],很好地证实了潮热的发生机制"激素学说"这一理论。围绝经期妇女随着卵巢功能的衰退,卵泡数目不断减少,下丘脑-垂体-卵巢轴功能失去明显的周期性变化,体内雌激素水平较前降低或呈波动性变化,下丘脑 GnRH 释放增加,机体内分泌系统平衡发生改变,可产生不同症状,临床上以潮热为多见[10]。之前有报道潮热雌激素水平降低,通过与神经递质之间相互作用,作用于下丘脑的体温调节中枢[11],导致潮热发生。本研

究结果显示潮热组妇女 E_2 水平较无潮热组妇女低,FSH 水平较无潮热组妇女高,差异均有统计学意义。本研究结果再次证明了低雌激素水平与潮热的发生有关。

雌激素的合成是由卵巢的卵泡膜细胞与颗粒细胞在 FSH 与 LH 的共同作用下完成。LH 与卵泡膜细胞上的 LH 受体结合后可使细胞内胆固醇形成 T 和雄烯二酮(androstenedione),后二者可透过细胞膜进入颗粒细胞内成为雌激素的前身物质。颗粒细胞上有 FSH 受体,与 FSH 受体结合可激活芳香化酶活性,将 T 和雄烯二酮分别转化为 E_2、雌酮(estrone,E_1)。脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)是合成雄烯二酮的前体物质。妇女体内的 T 绝大部分与 SHBG 和白蛋白结合。本研究结果显示 T 水平、DHEA-S 在潮热组和无潮热妇女中无明显差异,与国外学者的研究一致[12-13]。

CYP17 基因是雌激素合成代谢的关键酶,编码 17α-羟化酶和 17,20-裂解酶,是卵巢和肾上腺合成雄激素过程的限速酶。17α-羟化酶介导孕烯醇酮和孕酮的 17α-羟化,17,20-裂解酶将羟化的孕烯醇酮及孕酮催化为 E_1 和 T 的前体物质 DHEA 及雄烯二酮,继而在芳香化酶 CYP19 的催化下,T、雄烯二酮和雄酮分别转化为 E_2、E_1 和 E_3。CYP17 在限制性内切酶 *Msp*A1 Ⅰ识别位点处被切割后[14],可增加雌激素和雄激素的产物[15]。变异的 A_2(CCACC)等位基因具有启动子的结合位点,可上调转录活性,升高血清雌激素水平。CYP19 基因变异可引起许多雌激素相关疾病的发生与发展,被认为是激素依赖性疾病的候选致病基因。有学者报道绝经后妇女体内的 E_2 水平、骨密度与 CYP19 基因外显子 3 的沉默多态性(G→AVal80)有关,A_2A_2 基因型血清 E_2 水平更高,而 A_1A_1、A_1A_2 基因型老年妇女更容易发生骨质疏松和骨折[15]。本研究结果显示:有潮热症状的妇女与无潮热症状的妇女 CYP17 *Msp*A1 Ⅰ和 CYP19 *Rsa* Ⅰ基因型频率分布差异无统计学意义,也未发现与潮热风险有关。

CYP1A1 是人体肝外将雌激素进行 2-羟基化的主要代谢酶之一。CYP1A1 还具有芳香烃羟基化活性,能催化多环芳烃等多种致癌物氧化,生成具有强致癌活性的亲电子环氧化物。既往研究表明 CYP1A1 的多态性可能增加乳腺癌和肺癌的患病风险[16-17]。CYP1A1 *Msp* Ⅰ多态位点突变纯合子 A_2/A_2 明显提高了 CYP1A1 酶活性,使雌激素代谢中间产物-儿茶酚雌激素增多。Goodman 等[18]报道,具有纯合型 *Msp* Ⅰ突变 C 基因型(突变纯合型 A_2/A_2)的妇女,是妇科肿瘤的易感人群。CYP1B1 广泛存在于乳腺、肺、子宫、中枢神经系统组织中。有资料显示 CYPlBl 是 17β-雌二醇代谢的关键酶,主要代谢产物为 4-羟基雌二醇。CYP1Bl 在雌激素相关组织中(如乳腺、子宫、卵巢)高表达,提示 CYP1B1 在雌激素局部的代谢和维持雌激素平衡中起着重要作用。CYPlBl 具有 6 个多态位点[19],它的多态性可遗传,这就决定了个体在其一生中对雌激素的暴露水平有差异,CYP1B1 基因突变后的催化效率升高。目前对 CYP1B1 基因的研究主要集中在乳腺癌、青光眼、肺癌等。本研究结果显示 CYP1A1 *Msp* Ⅰ基因型分布频率在潮热和无潮热妇女中无显著性差异,对潮热发生的风险无影响作用。CYP1B1 *Eco*57 Ⅰ基因型分布频率在潮热组和无潮热组妇女中差异有统计学意义,CYP1B1 *Eco*57 Ⅰ基因多态性与围绝经期妇女潮热易感性相关,且潮热发生风险、发生中重度潮热的风险及持续时间 >1 年的风险均增加。

我们之前的研究显示围绝经期妇女潮热的发生与许多因素有关[20]。本研究结果提示潮热与雌激素水平的改变可能有关,其发生又具有地域性和种族性,且个体差异非常大,提示遗传因素在其发生机制中可能亦起了一定作用。CYP 是雌激素代谢的关键酶,不同的亚型在雌激素代谢过程中发挥不同的作用,并且每种亚型的不同基因型对雌激素代谢作用不同。本研究明确了 CYP1B1 *Eco*57 Ⅰ多态性与妇女的潮热有关,也许可以解释为何围绝经期妇女潮热的发生具有种族和个体差异。

参考文献:

[1] 王晓箴, 高素珍, 王莹, 等. 女性更年期的生理与心理变化及其心理健康教育[J]. 实用医药杂志, 2014,31(9): 801-802.

[2] Santoro N, Epperson C N, Mathews S B. Menopausal symptoms and their management[J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2015, 44(3): 497-515. DOI: 10.1016/j.ecl.2015.05.001

[3] Penaloza C G, Estevez B, Han D M, *et al*. Sex-dependent regulation of cytochrome P450 family members Cyp1a1, Cyp2e1, and Cyp7b1 by methylation of DNA[J]. FASEB J, 2014, 28(2): 966-977. DOI: 10.1096/fj.13-233320

[4] Goldstone J V, Sundaramoorthy M, Zhao B, *et al*. Genetic and structural analyses of cytochrome P450 hydroxylases in sex hormone biosynthesis: Sequential origin and subsequent

coevolution[J]. Mol Phylogenet Evol, 2016, 94(Pt B): 678-687. DOI: 10.1016/j.ympev.2015.09.012

[5] Go R E, Hwang K A, Choi K C. Cytochrome P450 1 family and cancers[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2015, 147: 24-30. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2014.11.003

[6] Freedman R R. Menopausal hot flashes: mechanisms, endocrinology, treatment[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2014, 142: 115-120. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2013.08.010

[7] Schilling C, Gallicchio L, Miller S R, *et al*. Current alcohol use is associated with a reduced risk of hot flashes in midlife women[J]. Alcohol Alcohol, 2005, 40(6): 563-568.

[8] Warren M P, Shu A R, Dominguez J E. Menopause and hormone Replacement[M]//De-Groot L J, Beck-Peccoz P, Chrousos G, *et al*, editors. Endotext[Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-2015.

[9] Takahashi T A, Johnson K M. Menopause[J]. Med Clin North Am, 2015, 99(3): 521-534. DOI: 10.1016/j.mcna.2015.01.006

[10] Blake J. Menopause: evidence-based practice[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2006, 20(6): 799-839.

[11] Diwadkar V A, Murphy E R, Freedman R R. Temporal sequencing of brain activations during naturally occurring thermoregulatory events[J]. Cereb Cortex, 2014, 24(11): 3006-3013. DOI: 10.1093/cercor/bht155

[12] Overlie I, Moen M H, Holte A, *et al*. Androgens and estrogens in relation to hot flashes during the menopausal transition[J]. Maturitas, 2002, 41(1): 69-77.

[13] Randolph J F Jr, Sowers M, Bondarenko I, *et al*. The relationship of longitudinal change in reproductive hormones and vasomotor symptoms during the menopausal transition[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2005, 90(11): 6106-6112.

[14] 李芳, 孙俊英, 章秋, 等. 安徽地区绝经后妇女细胞色素 P450 基因 CYP17 多态性与骨密度及血脂相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2008, 14(11): 770-775. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2008.11.002

[15] Somner J, McLellan S, Cheung J, *et al*. Polymorphisms in the P450 c17 (17-hydroxylase/17,20-Lyase) and P450 c19 (aromatase) genes: association with serum sex steroid concentrations and bone mineral density in postmenopausal women[J]. J Clin Endocrinol Metnb, 2004, 89(1): 344-351.

[16] Motaghed M, Al-Hassan F M, Hamid S S. Thymoquinone regulates gene expression levels in the estrogen metabolic and interferon pathways in MCF7 breast cancer cells[J]. Int J Mol Med, 2014, 33(1): 8-16. DOI: 10.3892/ijmm.2013.1563

[17] Daly A K. Polymorphic variants of cytochrome P450: relevance to cancer and other diseases[J]. Adv Pharmacol, 2015, 74: 85-111. DOI: 10.1016/bs.apha.2015.03.001

[18] Goodman M T, McDuffie K, Hemandez B, *et al*. CYP1A1, GSTM1, and G l polymorphisms and the risk of cervical squamous intraepithe1ial lesions in a multiethnic population[J]. Gynecol Oncol, 2001, 81(2): 263-269.

[19] Rylander-Rudqvist T, Wedren S, Granath F, *et al*. Cytochrome P450 1B1 gene polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk[J]. Carcinogenesis, 2003, 24(9): 1533-1539.

[20] 张巧利, 李芬, 于英, 等. 更年期妇女潮热的相关因素分析[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2010, 31(1): 106-109.

(**收稿**:2015-10-14;**修回**:2015-12-27)

(编辑 郭建秀)