

BDNF 基因多态性与精神分裂症发病及临床症状的相关性

王玉花 胡强 杨超 李平 赵阿勤 崔光成 闫凤武 刘艺涵 李树忠 田野

161006 齐齐哈尔医学院精神卫生学院(王玉花、杨超、李平、赵阿勤、崔光成、闫凤武、刘艺涵); 161006 齐齐哈尔市精神卫生中心(胡强、李树忠、田野); 150040 黑龙江中医药大学(刘艺涵)

通信作者: 王玉花, Email: drwangyuhua@sina.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2019.01.011

【摘要】 目的 探讨BDNF基因rs2030324和rs11030101多态性与精神分裂症发病及临床症状的关系。方法 于2017年1月—2018年1月由齐齐哈尔市精神卫生中心招募200例精神分裂症患者(病例组)及200例健康对照(对照组)纳入研究。每位研究对象抽取5 ml静脉血提取基因组DNA,对rs2030324和rs11030101两个位点上下游500 bp的序列设计引物,进行PCR扩增,比较rs2030324和rs11030101两个位点在两组人群中的基因频率分布及基因型分布。对病例组采用阳性与阴性症状量表(PANSS)评估临床症状,分析PANSS评分与不同基因型的相关性。结果 病例组和对照组在rs2030324和rs11030101两个位点基因频率分布和基因型分布均具有统计学意义($P < 0.05$)。该两个位点的A等位基因,都是精神分裂症的易感基因,OR值=1.532、1.391; 95%CI=1.154~2.034、1.027~1.883。rs11030101位点AT基因型的患者与PANSS阴性症状评分相关,AT基因型的患者阴性症状评分最高。结论 BDNF基因rs2030324、rs11030101位点多态性与汉族人群精神分裂症的发病具有相关性,该两个位点的等位基因A均可能是精神分裂症发病的易感等位基因。rs11030101位点多态性可能影响精神分裂症的临床表现。

【关键词】 精神分裂症; 脑源性神经营养因子; 单核苷酸多态性; 症状

基金项目: 齐齐哈尔市科学技术局社会发展项目(SFGG-201448)

Correlation of BDNF gene polymorphism with pathogenesis and clinical symptoms of schizophrenia

Wang Yuhua, Hu Qiang, Yang Chao, Li Ping, Zhao Ameng, Cui Guangcheng, Yan Fengwu, Liu Yihan, Li Shuzhong, Tian Ye

School of Mental Health, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China (Wang YH, Yang C, Li P, Zhao AM, Cui GC, Yan FW, Liu YH); Qiqihar Mental Health Center, Qiqihar 161006, China (Hu Q, Li SZ, Tian Y); Heilongjiang University of Chinese Medicine, Horbin 150040, China (Liu YH)

Corresponding author: Wang Yuhua, Email: drwangyuhua@sina.com

【Abstract】 Objective To explore the correlation of the polymorphisms of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene rs2030324 and rs11030101 with the pathogenesis and clinical symptoms of schizophrenia. **Methods** A total of 200 patients with schizophrenia from Qiqihar Mental Health Center (case group) and 200 healthy controls (control group) were recruited from January 2017 to January 2018. Five milliliters of venous blood was extracted from each study object to extract genomic DNA. Primers were designed for the upstream and downstream of rs2030324 and rs11030101. PCR amplification was performed to compare the gene frequency distribution and genotype distribution of two loci between the two groups. Clinical symptoms were evaluated by Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) in the case group, and the correlation between PANSS score and different genotypes was analyzed. **Results** The frequency distribution and genotype distribution of rs2030324 and rs11030101 had statistical significance ($P < 0.05$) between the two groups. The A alleles at the two sites were all susceptible to schizophrenia, with OR values of 1.532 and 1.391, 95%CI (1.154–2.034) and (1.027–1.883), respectively. Patients with rs11030101 AT genotype were associated with PANSS negative symptom score, and patients with AT genotype had the highest negative symptom score. **Conclusions** The polymorphisms of BDNF gene rs2030324 and rs11030101 are correlated with the incidence of schizophrenia in the Han population, and the alleles A of both sites may be the susceptible alleles of the onset of schizophrenia. rs11030101 polymorphism may affect the clinical manifestations of schizophrenia.

【Key words】 Schizophrenia; Brain-derived neurotrophic factor (BDNF); Single nucleotide polymorphism; Symptoms

Fund program: Social Development Project of Science and Technology Bureau of Qiqihar (SFGG-201448)

精神分裂症是精神科常见病、多发病,全球发病率约为1%^[1]。据我国第二次残疾人抽样调查结果显示,精神残疾率高达45.0%,其中48.4%的精神残疾由精神分裂症导致^[2]。精神分裂症的发病,不仅给患者带来生理和心理上的痛苦,也给家庭和社会带来巨大的经济损失和负面影响。精神疾病当前在我国占疾病总负担的1/5,排名第一位,预测到2020年,这一比例将上升到1/4^[3]。目前精神分裂症被公认为是一种多基因遗传病,一致认为社会环境、基因多态性以及两者的交互作用共同促成了精神分裂症的发生^[4]。脑源性神经营养因子(BDNF)是一种调节神经元分化、生长和存活的神递质,广泛分布于中枢神经系统中,在维护正常大脑功能中起到重要的作用。研究表明, BDNF基因上单核苷酸多态性位点(single nucleotide polymorphisms, SNP)rs2030324位于BDNF启动子区域,rs11030101位于BDNF内含子区域^[5],这两个位点在精神分裂症发生发展中起重要作用,但从既往研究结果来看,由于地区和种族差异,该两个位点与精神分裂症关系的研究结果一致性并不高。因此本研究拟探讨BDNF基因rs2030324、rs11030101位点与精神分裂症发病及其与临床症状的相关性。

一、对象与方法

1. 研究对象:精神分裂症患者(病例组)于2017年1月—2018年1月由齐齐哈尔市精神卫生中心招募。入组标准为:(1)符合DSM-IV精神分裂症的诊断标准,所有患者均由两名主治医师及以上的精神科医生独立诊断,且诊断一致;(2)汉族,右利手;(3)年龄18~60周岁。排除标准:(1)妊娠期或哺乳期妇女;(2)患有心、肝、肾等严重的器质性疾病;(3)患神经系统疾病者;(4)具有药物依赖及精神活性物质使用证据者;(5)有老年痴呆、癫痫、内分泌或血液系统疾病史者;(6)生物学父母不清楚者;(7)母孕期有不良发育史或其生产阶段有产伤史者^[6]。共收集精神分裂症患者200例,男114例,女86例,年龄(41.36±4.42)岁。另同期招募齐齐哈尔市北三区健康对照居民200名(对照组),入组标准为:(1)汉族,右利手;(2)年龄18~60周岁;(3)既往无精神疾病史,无精神疾病家族史;(4)无重大躯体疾病或符合DSM-IV诊断标准的精神疾病;(5)与精神分裂症组在性别、年龄、利手及学历等方面相匹配。排除标准与病例组相同。对照组男109名,女91名,年龄(42.24±4.58)岁。对照组与病例组在年龄、性别具有可比性($t=0.720$, $P=0.872$; $\chi^2=0.253$, $P=0.875$)。

本研究通过齐齐哈尔医学院伦理委员会批准。所有研究对象或其家属均知情同意,并签署知情同意书。

2. 方法:(1)人口学信息及临床症状资料收集。研究对象于进入研究初始,采用问卷调查方式,收集其年龄、性别、学历、职业、年收入等人口学资料收集。对精神分裂症患者采用阳性与阴性症状量表(PANSS)进行临床症状的评估。PANSS含30个条目,分为阳性症状7个条目,阴性症状7个条目,一般精神病理症状16个条目。每条目按递增的7级评分为:1无,2很轻,3轻度,4中度,5偏重,6重度,7极重度。症状越严重程评分越高。整个过程由受到两周以上PANSS一致性培训的精神科医生进行评估。(2)血液样本收集及基因组DNA提取。所有研究对象于晨起后采集空腹外周静脉血5 ml,置于EDTA-2Na抗凝管中。利用康为世纪血液基因组提取试剂盒提取基因组DNA。提取的DNA用岛津BioSpecnano超微量分光光度计测量浓度及质控(OD260/OD280=1.6~1.8),并稀释工作液至50(±5)ng/ μ l,其余DNA-80℃保存。(3)SNP引物设计及基因分型。rs2030324和rs11030101位点及其上下游各500 bp序列由GenBank数据库下载,采用Primer premier 5.0软件设计引物,rs2030324上游引物(5'-3'): AAGGGATGTGAGATTGTG;下游引物:CTGGAGGTAGAAAGAGGG,目的片段437 bp;rs11030101位点上游引物(5'-3'): CTTTAGCAGCTTTGTAAG;下游引物:CCACCCAGGTGTAGAATA,目的片段:453 bp。用PCR仪(Biorad, C1000-Touch,美国)进行DNA的扩增。PCR反应条件:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,61℃退火30 s;72℃延伸30 s;30个循环;72℃延伸10 min。PCR产物由北京六合华大基因公司测序,测序结果由DNA Star软件包识别并分析。

3. 统计学方法:利用SHEsis网络平台,采用拟合优度 χ^2 分析计算Hardy-Weinberg平衡,利用SPSS 22.0软件中的 χ^2 检验两组间等位基因、基因型频率分布差异,基因频率计算为:A等位基因频率=(2×AA+AB)/(AA+AB+BB)(假设位点等位基因分别为A/B);计算比值比(OR)及95%CI,用单因素方差分析比较位点rs2030324、rs11030101不同基因型患者的PANSS评分。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

1. Hardy-Weinberg平衡检验:对对照组两个位点测序成功的基因型分布进行拟合优度 χ^2 检验,观察值和理论值之间的差异均无统计学意义($P>$

0.05),符合 Hardy-Weinberg 平衡定律,说明受试者来自大的群体,提示该样本具有一定的代表性。

2. rs2030324 和 rs11030101 等位基因及基因型分布:见图 1、2,表 1、2。病例组共有 194 例成功测序,对照组共有 196 例成功测序。图 1 显示 rs2030324 位点等位基因 A/G,基因型(AA、AG、GG)分布差异均有统计学意义。其中 A 等位基因是精神分裂症风险位点, $OR=1.532, 95\%CI=1.154 \sim 2.034$ 。图 2 显示 rs11030101 等位基因 A/T,基因型(AA、AT、TT)分布差异均有统计学意义。其中 A 等位基因是精神分裂症风险位点, $OR=1.391, 95\%CI=1.027 \sim 1.883$ 。

3. rs2030324 和 rs11030101 多态性与临床症状相关性:见表 3。结果显示,rs2030324 不同基因型患者之间 PANSS 阳性症状分、阴性症状分、一般精神病理分及 PANSS 总分的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);而 rs11030101 位点同基因型患者之间阴性量表评分差异有统计学意义 ($P < 0.05$),其中 rs11030101 位点 AT 基因型的患者阴性症状评分最高,TT 型的患者阴性症状评分最低。阳性症状分、一般精神病理分及 PANSS 总分的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

讨论 精神分裂症作为一种复杂性疾病,受多

种因素的影响。基于双生子、寄养子以及家系的研究结果表明遗传因素在精神分裂症的发病及病理机制中起着重要的主导作用,精神分裂症的遗传度约为 80%^[7]。神经发育障碍是精神分裂症病因学中比较重要的成因假说。BDNF 作为神经营养因子家族中的典型成员之一,是神经细胞的重要神经递质,因此成为精神分裂症发病发展的重要研究对象。本研究以汉族人群为研究对象,通过对精神分裂症患者及健康对照组比较发现,精神分裂症患者 BDNF 基因上 SNP rs2030324 及 rs11030101 等位基因频率及基因型分布差异均有统计学意义。rs2030324 位点多态性是研究较多、领域较广泛的基因位点,既往国内外报道^[8-9]发现 rs2030324 位点与精神分裂症存在显著相关性,本研究也得到了相同的结果。rs2030324 位于 BDNF 启动子区域,推测其不同等位基因可能会调控 BDNF 转录活性。BDNF 在神经元的增殖、发育、生存、重塑等过程中均起到关键的作用,也在学习、记忆等相关功能的突触调节中有着重要作用。认知功能障碍是精神分裂症核心症状,早在前驱期就已经出现,并且可持续整个疾病的过程。而学习、记忆是认知功能的重要组成,因此可推测 BDNF 异常可能是精神分裂症发生的生理基础之一。

表 1 rs2030324 等位基因及基因型分布

组别	例数	基因型(例)			等位基因频率(%)	
		AA	AG	GG	A	G
病例组	194	67	96	31	59.28	40.72
对照组	196	47	97	52	48.72	51.28
χ^2 值		8.817			8.734	
P 值		0.012			0.003	

表 2 rs11030101 等位基因及基因型分布

组别	例数	基因型(例)			等位基因频率(%)	
		AA	AT	TT	A	T
病例组	194	106	67	21	71.91	28.09
对照组	196	81	92	23	64.80	35.20
χ^2 值		7.354			4.557	
P 值		0.025			0.033	

表 3 两个位点不同基因型患者 PANSS 评分(分, $\bar{x} \pm s$)

量表项目	rs2030324 位点					rs11030101 位点				
	AA	AG	GG	F 值	P 值	AA	AT	TT	F 值	P 值
阳性症状分	29.25 ± 8.77	25.16 ± 8.55	27.47 ± 9.69	1.983	0.143	27.60 ± 8.95	23.74 ± 8.11	28.13 ± 9.83	2.269	0.109
阴性症状分	29.00 ± 8.37	31.37 ± 7.54	31.37 ± 9.28	0.884	0.417	29.51 ± 8.93	34.60 ± 5.63	28.38 ± 9.96	4.858	0.010
一般精神病理分	54.56 ± 12.23	53.56 ± 11.95	58.74 ± 12.10	1.236	0.296	53.68 ± 12.20	55.23 ± 13.03	58.00 ± 8.65	0.501	0.607
PANSS 总分	112.83 ± 12.05	110.09 ± 12.25	117.58 ± 10.72	2.624	0.078	110.79 ± 13.31	113.57 ± 12.19	114.50 ± 7.19	0.675	0.512

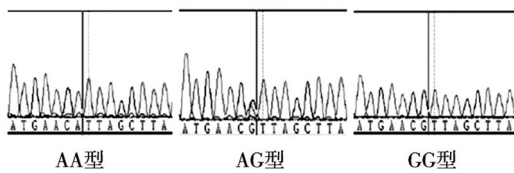


图1 rs2030324位点基因型分布图

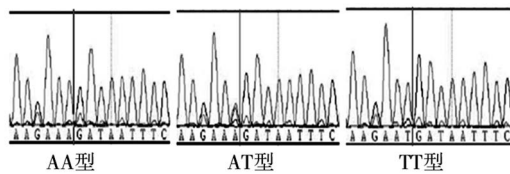


图2 rs11030101位点基因型分布图

本研究还发现BDNF基因rs11030101位点的不同基因型的精神分裂症患者在阴性症状分方面存在差异,不同基因型对患者PANSS阴性症状评分产生影响。既往研究中^[10-11]也有BDNF基因不同多态性位点与PANSS评分相关。本研究发现的位点位于内含子区域,提示不同等位基因可能影响内含子的剪切。但本研究也有一定局限性。首先,精神分裂症是与多种遗传基因存在关联的复杂疾病,由于临床症状复杂,并且其遗传作用是由多个微效基因共同决定,且易受环境影响,而本研究仅研究了BDNF基因rs2030324、rs11030101两个位点,影响BDNF基因表达的因素很多,尚不足以定论。其次,受到研究时间和经费的限制,本研究仅在小样本人群中验证了这两个位点的多态性,在未来本研究还将扩大样本以加强统计效力。第三,对临床症状的采集也局限于PANSS量表,下一步研究尚需采用更多的行为和认知测量工具来探讨基因与精神分裂症临床症状相关性。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无任何相关利益冲突

作者贡献声明 构思与设计为王玉花,文献调研为赵阿勤,临床病例收集为胡强、李树忠、田野,血液样本DNA提取为杨超、闫凤武、刘艺涵,数据分析为李平,论文修订为崔光成

参 考 文 献

[1] 陈蕊,郑伟,冷传芳,等.精神分裂症患者精神残疾的影响因素研究进展[J].神经疾病与精神卫生,2017,17(1):63-66. DOI:10.3969/j.issn.1009-6574.2017.01.018.

Chen R, Zheng W, Leng CF, et al. Research progress on the influence factors of mental disability in patients with schizophrenia[J]. Journal of Neuroscience and Mental Health, 2017, 17(1): 63-66.

[2] 陈昊天,周郁秋,孙玉静,等.精神分裂症精神残疾影响因素的研究进展[J].神经疾病与精神卫生,2016,16(3):333-337. DOI:10.3969/j.issn.1009-6574.2016.03.025.
Chen HT, Zhou YQ, Sun YJ, et al. Research progression of influence factors of mental disability in schizophrenia[J]. Journal of Neuroscience and Mental Health, 2016, 16(3): 333-337.

[3] 徐彩娟,汪胤,杨梅,等.物质依赖与精神分裂症患者主要照料者疾病家庭负担对照研究[J].中国临床心理学杂志,2017,25(2):386-389. DOI:10.16128/j.cnki.1005-3611.2017.02.042.
Xu CJ, Wang Y, Yang M, et al. Family Burden of Prime Caregivers of Patients with Schizophrenia and Drug Addiction[J]. Chinese Journal of Clinical Psychology, 2017, 25(2): 386-389.

[4] 张亮堂,李平,崔光成.精神分裂症影像基因组学研究进展[J].神经疾病与精神卫生,2016,16(3):351-353. DOI:10.3969/j.issn.1009-6574.2016.03.029.
Zhang LT, Li P, Cui GC. Research progress of the imaging genomics on schizophrenia[J]. Journal of Neuroscience and Mental Health, 2016, 16(3): 351-353.

[5] Wang CK, Xu MS, Ross CJ, et al. Development of a cost-efficient novel method for rapid, concurrent genotyping of five common singlenucleotide polymorphisms of the brain derived neurotrophic factor (BDNF) gene by tetra-primer amplification refractory mutation system[J]. Int J Methods Psychiatr Res, 2015, 24(3): 235-244. DOI:10.1002/mpr.1475.

[6] 张亮堂,崔光成,吴桐,等. BDNF基因rs2030324和rs11030101位点多态性与精神分裂症的关联性分析[J].中华行为医学与脑科学杂志,2017,17(10):899-903. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2017.10.007.
Zhang LT, Cui GC, Wu T, et al. The association between polymorphism in rs2030324 and rs11030101 of BDNF and the patients with schizophrenia[J]. Chin J Behav Med & Brain Sci, 2017, 17(10): 899-903.

[7] Flint J, Munafò M. Schizophrenia: genesis of a complex disease[J]. Nature, 2014, 511(7510): 412-413. DOI:10.1038/nature13645.

[8] Zhang XY, Chen DC, Tan YL, et al. BDNF Polymorphisms Are Associated With Cognitive Performance in Schizophrenia Patients Versus Healthy Controls[J]. J Clin Psychiatry, 2016, 77(8): e1011-1018. DOI:10.4088/JCP.15m10269.

[9] Sun RF, Zhu YS, Kuang WJ, et al. The G-712A polymorphism of brain-derived neurotrophic factor is associated with major depression but not schizophrenia[J]. Neurosci Lett, 2011, 489(1): 34-37. DOI:10.1016/j.neulet.2010.11.061.

[10] Li W, Zhou N, Yu Q, et al. Association of BDNF gene polymorphisms with schizophrenia and clinical symptoms in a Chinese population[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2013, 162B(6): 538-545. DOI:10.1002/ajmg.b.32183.

[11] Zhang XY, Chen DC, Tan YL, et al. BDNF polymorphisms are associated with schizophrenia onset and positive symptoms[J]. Schizophr Res, 2016, 170(1): 41-47. DOI:10.1016/j.schres.2015.11.009.

(收稿日期:2018-11-03)

(本文编辑:赵金鑫)