

· 学术交流 ·

# 儿童青少年双相抑郁伴攻击行为患者全基因组DNA甲基化修饰研究

张沛文 邹韶红 沈小琴 迪丽娜孜·卡日

832003 石河子大学医学院(张沛文); 830001 乌鲁木齐, 新疆维吾尔自治区人民医院临床心理科(邹韶红、沈小琴); 830011 乌鲁木齐, 新疆医科大学(迪丽娜孜·卡日)

通信作者: 邹韶红, Email: zoushaohong@126.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2021.04.008

**【摘要】** 目的 研究儿童青少年双相抑郁伴攻击行为患者全基因组DNA甲基化情况。方法 选取2019年9月至2021年1月在新疆维吾尔自治区人民医院临床心理科就诊的45例儿童青少年双相障碍抑郁患者,按照有、无攻击行为分为攻击组(16例)与无攻击组(29例)。纳入5例有攻击行为的儿童青少年双相障碍抑郁患者(攻击组)及5例无攻击行为的儿童青少年双相障碍抑郁患者(无攻击组),应用Illumina公司的850K甲基化芯片(Illumina Infinium HumanMethylation EPIC BeadChip, 850K array)对10例患者外周血中的DNA进行甲基化分析,使用Genome Studio软件分析原始数据并筛选出两组间的差异甲基化位点,使用DAVID在线数据库对甲基化差异基因进行功能富集分析,并选出2个基因,使用焦磷酸测序对攻击组患者、无攻击组患者的外周静脉血样本进行验证。结果 攻击组与非攻击组样本间存在差异高甲基化位点172个,包含高甲基化基因87个;其中差异低甲基化位点148个,包含低甲基化基因74个。差异甲基化位点存在于每条染色体上,主要分布于5'胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤-3'岛(CpG)的其他区域。有攻击组甲基化 $\beta$ 值峰值在0.63左右,无攻击组甲基化 $\beta$ 值峰值分别在0.40、0.85左右。Gene Ontology分析结果显示,差异甲基化基因参与轴突导向等生物学功能。Pathway分析中,存在于粘蛋白O-聚糖生物合成通路。焦磷酸测序验证中,DPYSL2基因在两组的甲基化率分别是(27.438 $\pm$ 17.874)%、(27.345 $\pm$ 18.832)%,差异无统计学意义( $P=0.987$ )。ABI3BP基因在两组的甲基化率分别是(84.188 $\pm$ 25.761)%、(78.586 $\pm$ 23.567)%,差异无统计学意义( $P=0.113$ )。结论 攻击组与非攻击组样本间存在差异甲基化位点及基因,这些差异甲基化位点及基因为明确儿童青少年双相抑郁患者攻击行为的发生原因提供了基础。

**【关键词】** 双相障碍; 儿童; 青少年; 攻击行为; DNA甲基化; 甲基化芯片**基金项目:** 国家自然科学基金(31360239); 新疆维吾尔自治区人民医院院内项目(20190306)

## Genome-wide DNA methylation in children and adolescents with bipolar depression and aggressive behavior

Zhang Peiwen, Zou Shaohong, Shen Xiaoqin, Dilinazi·Kari

Medical College, Shihezi University, Shihezi 832003, China (Zhang PW); Department of Clinical Psychology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China (Zou SH, Shen XQ); Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China (Dilinazi·KR)

Corresponding author: Zou Shaohong, Email: zoushaohong@126.com

**【Abstract】 Objective** To explore the Genome-wide DNA methylation in children and adolescents with bipolar depression and aggressive behavior. **Methods** A total of 45 pediatric bipolar disorder (PBD) patients admitted to the Department of Clinical Psychology of People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region from September 2019 to January 2021 were recruited, and divided into aggressive group ( $n=16$ ) and non-aggressive group ( $n=29$ ). Five patients with PBD were enrolled from each group. Illumina Infinium HumanMethylation EPIC BeadChip 850K array, was applied to detect DNA methylation status in peripheral blood of these 10 patients. Differential methylation loci were filtrated according to the Diffscore and methylation differences (Delta-beta score), together with Genome Studio software. The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) online database was used to analyze the functional enrichment

of methylated genes. Two genes were verified by pyrosequencing in peripheral blood of the aggressive group and the non-aggressive group. **Results** There were differences in 172 hypermethylated loci, including 87 hypermethylated genes, between the samples of the attack group and the non-attack group. There were 148 different hypomethylated loci, including 74 hypomethylated genes. Differential methylation sites exist on each chromosome and are mainly distributed in other regions of 5'-Cytosine-phosphoric-guanine-3'(CpG) island. The peak value of methylation  $\beta$  in the aggressive group was about 0.63. The peak values of methylation  $\beta$  in non-aggressive group were about 0.40 and 0.85. Gene Ontology analysis results showed that differential methylated genes were involved in biological functions such as axonal orientation. In pathway analysis, it was involved in mucin-type O-glycan biosynthesis pathway. In pyrosequencing verification, the methylation rates of dihydropyrimidinase like 2 (DPYSL2) gene in the two groups were  $(27.438 \pm 17.874)\%$  and  $(27.345 \pm 18.832)\%$ , respectively. There was no statistical significance between the two groups ( $P=0.987$ ). The methylation rates of ABI family member 3 binding protein (ABI3BP) gene in the two groups were  $(84.188 \pm 25.761)\%$  and  $(78.586 \pm 23.567)\%$ , respectively. There is no statistical significance between the two groups ( $P=0.113$ ). **Conclusions** There were differences in methylation loci and genes between the aggressive group and the non-aggressive group, which provided a basis for identifying the causes of aggressive behavior in children and adolescents with bipolar depression.

**【Key words】** Bipolar disorder; Child; Adolescent; Aggressive behavior; DNA methylation; Methylation microchip

**Fund programs:** National Natural Science Foundation of China (31360239); Project of People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region (20190306)

双相障碍是一种重性精神疾病,典型表现为躁狂或轻躁狂与抑郁反复交替发作<sup>[1]</sup>,患病人数超世界人口的1%,也是青年人致残的主要原因<sup>[2]</sup>。儿童青少年双相障碍(pediatric bipolar disorder, PBD)是指起病于18岁之前的双相障碍,除了双相障碍的典型表现,有些患者还表现为易怒、兴奋以及烦躁等不典型表现<sup>[3-4]</sup>。攻击行为是指一种意图给他人造成伤害或痛苦的行为<sup>[5-6]</sup>,自杀行为<sup>[7]</sup>及自伤行为<sup>[8]</sup>则是一种对自身的攻击行为。有研究表明,诊断为PBD的青少年较注意缺陷多动障碍青少年患者更具有语言攻击性,表现出更高水平的反应性攻击<sup>[9]</sup>。PBD患者自杀风险明显增加,20%的PBD患者有自杀行为<sup>[11]</sup>。

有影像学研究指出,PBD患者脑内左侧亚膝前扣带回、右侧杏仁核、左侧大脑视区10区和右侧丘脑的活动水平与其儿童青少年攻击量表得分呈负相关<sup>[12]</sup>,但目前PBD患者攻击行为发生的原因仍不清楚。表观遗传学是传统遗传学的重要补充,是研究不涉及DNA序列的改变但基因表达发生改变及可遗传的一门学科,包括DNA甲基化修饰、组蛋白修饰等。DNA甲基化主要是指一个甲基被DNA甲基转移酶催化,从S-腺苷甲硫氨酸转移至胞嘧啶的第5位碳原子上,形成5-甲基胞嘧啶的过程。Palumbo等<sup>[13]</sup>的研究指出,人类攻击行为由基因和环境共同决定,而表观遗传学的研究内容主要就是基因与环境相互作用导致基因表达发生改变。有研究指出,双胞胎中有攻击行为者的外周血中发生甲基化

变化<sup>[14]</sup>。近年来有多项研究显示,精神障碍患者体内不同基因的高或低甲基化与其自杀行为有关。比如在精神分裂症、抑郁障碍与双相障碍患者的自杀行为的基因甲基化研究中发现,CCDC53基因<sup>[15]</sup>、PSORS1C3基因<sup>[16]</sup>以及MPP4基因、TBC1D16基因<sup>[17]</sup>的低甲基化与其自杀行为相关。但是,在抑郁症患者自杀行为的另外两项研究中则发现,TPH基因<sup>[18]</sup>以及BDNF基因<sup>[19]</sup>的高甲基化与其自杀行为相关。直至现在,国内外关于PBD患者攻击行为的全基因组DNA甲基化修饰研究仍少见。本研究采用美国Illumina公司的850K甲基化芯片筛选PBD抑郁患者有攻击行为组与无攻击行为组间外周血中差异甲基化位点及基因,随后对差异甲基化基因进行焦磷酸测序验证,旨在为探讨PBD抑郁患者的攻击行为的发生原因提供理论依据。

### 一、对象与方法

1. 研究对象:依据世界卫生组织编制的国际疾病分类《ICD-10精神与行为障碍分类》<sup>[1]</sup>中的F31双相情感障碍及汉密尔顿抑郁量表24项版(Hamilton Rating Scale for Depression 24, HRSD24)<sup>[20]</sup>得分>20分为有抑郁发作,选取2019年9月至2021年1月在新疆维吾尔自治区人民医院临床心理科就诊的45例PBD抑郁患者,年龄12~18岁,按照有、无攻击行为分为攻击组与无攻击组。有攻击行为的标准:修改版外显攻击行为量表(Modified Overt Aggression Scales, MOAS)<sup>[21]</sup>加权总分 $\geq 4$ 分,且表中“体力攻击”项 $\geq 1$ 分。无攻击行为的标准:MOAS

加权总分 $< 4$ 分,且表中“体力攻击”为0分。攻击组16例患者中,男4例,女12例;无攻击组29例患者中,男9例,女20例。攻击组与无攻击组排除标准:(1)共病其他精神疾病及器质性疾病、神经系统疾病、与情绪变化有关的内分泌系统疾病;(2)有精神活性物质滥用、依赖史;(3)过去6个月接受过电休克治疗。本研究所有参与者在入组之前均签署纸质知情同意书,由参与者本人和父母一方或双方签署。本试验获得新疆维吾尔自治区人民医院伦理委员会的批准(伦理审批号:2013025)。两组的年龄、病程、性别及民族等一般资料比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ );两组的HRSD24量表得分比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );两组的MAOS量表及体力攻击项评分比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

2.方法:(1)DNA的提取与保存。使用乙二胺四乙酸抗凝管采集研究对象肘静脉血5 ml,  $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。使用德国QIAGEN公司生产的QIAamp DNA Mini Kit,按照说明书提取全血中DNA。对提取的DNA使用可见分光光度计(NanoDrop2000,美国赛默飞公司)测定含量,用1%琼脂糖凝胶电泳方法进行完整性检测。甲基化芯片10例样本DNA纯度(吸光度260 nm/280 nm值)均在1.7~1.9之间;浓度均 $\geq 50 \text{ ng}/\mu\text{l}$ 。将DNA放置于 $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待用。(2)芯片初筛。选择有攻击组和无攻击组各前5例DNA样本使用EZ DNA甲基化试剂盒(Zymo Research,美国Illumina公司)优化方法行DNA亚硫酸盐转化;之后经过扩增-断裂-沉淀-重悬,在Illumina Methylation 850K芯片上行杂交-洗涤-延伸-染色-扫描,获取DNA甲基化信号。信号扫描采用iScan软件(美国Illumina公司),得到每个基因位点的原始信号值。使用数据分析软件Genome Studio软件(美国Illumina公司)对原始信号值进行标准化后得到标准化数据。(3)焦磷酸测序验证。将筛选出来的差异甲基化基因复制于PubMed中进行搜索,挑选出既往已经有相关研究的基因用于45例DNA样本的焦磷酸测序验证,其主要步骤为亚硫酸氢钠修饰-纯化亚硫酸盐修饰的DNA-设计引物-PCR反应-焦磷酸测序。DPYSL2基因引物序列如下:上游引物F为ATATATGAGGGTTTTGGATTAGATG,下游引物R为AATCTAAATATCCACAATTAACCAC,测序引物为AATTAACCCTTAAAATCTC,片段长度为143 bp。ABI3BP基因引物序列如下:上游引物F为GTAAGTAGTTTGATGTTTTATGTTTTAAA,下游引物R为TTCACACATTTAAACTTTAAATCTCTAC,

测序引物为TTTAAATATGATTTGTTTTATTATA,片段长度为151 bp。聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)反应体系:模板(20~50 ng/ $\mu\text{l}$ )体积1、引物F(10  $\mu\text{mol/L}$ )体积2、引物R(10  $\mu\text{mol/L}$ )体积2、dNTP(10  $\mu\text{mol}$ )体积2、Taq Buffer with  $\text{MgCl}_2$  (10 $\times$ )体积5、Taq酶(5 U/ $\mu\text{l}$ )体积0.5、水( $\mu\text{l}$ )体积35.5,全部共50  $\mu\text{l}$ 。PCR反应条件:预变性温度 $95^{\circ}\text{C}$ ,时间5 min;变性 $94^{\circ}\text{C}$ ,时间30 s,35个循环;退火温度 $55^{\circ}\text{C}$ ,时间30 s;延伸温度 $72^{\circ}\text{C}$ ,时间50 s;修复延伸温度 $72^{\circ}\text{C}$ ,时间8 min。然后,将PCR产物放入焦磷酸测序仪(PyroMark Q96 ID,德国QIAGEN)进行焦磷酸测序。

3.统计学方法:利用R语言软件中Champ包对标准化的甲基化数据进行分析,计算两组间DNA样本的甲基化位点的甲基化差异值(Diffscore值),Diffscore值 $< -13$ 或 $> 13$ ,相当于 $P=0.05$ ,且甲基化 $\beta$ 值差值绝对值( $|\Delta\beta| > 0.17$ ),为差异甲基化位点。将两组间的差异甲基化位点对应的基因输入DAVID在线数据库(<https://david.ncifcrf.gov>)进行Gene Ontology分析和Pathway分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用SPSS 25.0统计学软件进行其余实验数据的分析,符合正态分布且方差相等的计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )描述,使用独立样本 $t$ 检验进行统计分析;对不符合正态分布的计量资料使用中位数(四分位间距)进行统计描述,并使用Wilcoxon秩和检验(两独立样本比较的秩和检验)进行统计分析。

## 二、结果

1.差异甲基化位点及基因分布特点:(1)染色体上差异甲基化位点的分布。根据Diffscore值 $> 13$ 或 $< -13$ 和甲基化 $\beta$ 值差值,在攻击组与无攻击组间筛选出差异甲基化位点320个,其中高甲基化位点172个,低甲基化位点148个;X染色体只有高甲基化位点分布,第1条染色体至Y染色体高、低甲基化位点均有分布。6号染色体高甲基化位点分布最多,1号染色体低甲基化位点分布最多。见图1(见本期封三)。(2)基因区域中差异甲基化位点的分布。攻击组与无攻击组间筛选出的差异甲基化位点在CpG岛及其周围区域均有分布,高、低甲基化位点均主要位于CpG岛的其他区域,分别为119、112个位点。见表1。(3)样本甲基化 $\beta$ 值分布情况。 $\beta$ 值密度曲线图(density plot)显示了两组样本所有甲基化位点的甲基化程度分布情况,攻击组有一个甲基化峰,其峰值在0.63左右;无攻击组有两个甲基化峰,两个峰

值分别在0.40、0.85左右。两组样本间β值密度曲线不趋于一致。见图2。(4)差异甲基化基因。利用850K芯片在攻击组与无攻击组间共筛选出甲基化差异基因161个,其中87个高甲基化基因、74个低甲基化基因。在PubMed数据库中搜索出DPYSL2基因及ABI3BP基因与自杀行为相关的文献,故将按P值选出的前10个高、低甲基化基因、DPYSL2高甲基化基因、ABI3BP低甲基化基因分别列出。见表2、表3。(5)功能聚类分析。将攻击组与无攻击组间筛选出的甲基化差异基因输入DAVID在线数据库进行Gene Ontology分析,结果显示差异基因出现于多种不同的功能群落;在生物学过程方面,主要参与轴突导向、细胞黏附、细胞骨架组织等;在细胞组分方面,主要存在于细胞骨架、肌纤维膜、轴突等中;在分子功能方面,主要与钙离子结合有关。见图3(见本期封三)。Pathway分析结果显示,差异甲基化基因中ST3GAL2(ST3 beta-galactoside alpha-2, 3-sialyl transferase 2)、GALNT18(polypeptide N-acetylgalactosaminyl transferase 18)、GALNT9基因(polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 9)参与粘蛋白型O-聚糖生物合成通路( $P=0.032$ )。

2. ABI3BP、DPYSL2基因焦磷酸盐测序验证结果:ABI3BP基因在两组全部样本CpG1位点的甲基化率为9%~45%。经检验,两组间的甲基化率符合正态分布和方差相等( $t=0.016$ ),差异无统计学意义( $P=0.987$ )。DPYSL2基因在两组全部样本CpG1位点的甲基化率为55%~110%。经检验,两组间的甲基化率符合正态分布和方差相等( $t=-1.584$ ),差异无统计学意义( $P=0.113$ )。见表4。

**讨论** 对精神障碍患者攻击行为的表观遗传学研究,尤其是全表观基因组DNA甲基化修饰研究逐渐成为精神障碍患者攻击行为研究的新方向<sup>[15]</sup>。850K甲基化芯片的优点是对基因组中866 895个CpG位点的DNA甲基化进行定量检测<sup>[22]</sup>,具有全面和灵敏的优点,有利于找出与疾病相关的位点及基因。本研究应用850K甲基化芯片技术对有攻击行为的PBD抑郁患者与无攻击行为的PBD抑郁患者的DNA进行全基因组甲基化分析,筛选出320个差异甲基化位点。差异甲基化位点中,甲基化程度上调位点有172个,对应DPYSL2等87个高甲基化基因;甲基化程度下调位点有148个,对应ABI3BP等74个低甲基化基因。为了探究差异甲基化位点及基因在染色体及CpG岛的分布是否具有聚集特点,本研究将两组间差异甲基化位点定位于染色体上,

表1 根据CpG岛划分的差异甲基化位点分布(个,%)

项目	总数	CpG岛	岛滩区	岛架区	其他
高甲基化	172	17(9.88)	21(12.20)	15(8.72)	119(69.19)
低甲基化	148	8(5.41)	14(9.46)	14(9.46)	112(75.68)

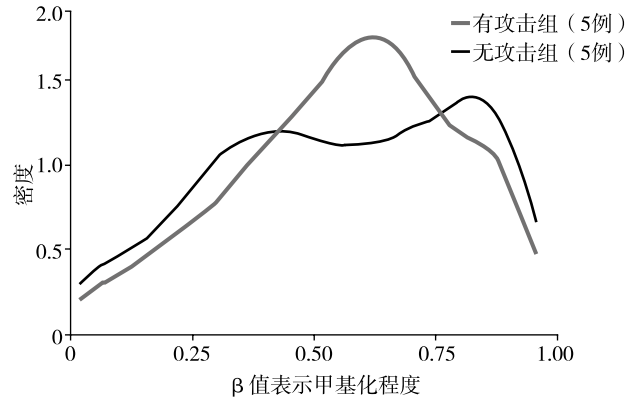


图2 β值密度曲线图

表2 两组间筛选出的前10个高甲基化基因及DPYSL2基因

高甲基化基因	甲基化β值差值	差异分值	染色体
LMNTD1	0.179 203 3	31.811 02	12
CNOT2	0.320 487 4	30.787 04	12
FLJ33360	0.183 610 7	29.114 33	5
HSDL2	0.196 464 3	26.615 33	9
BTBD11	0.194 209 6	26.576 46	12
RSF1	0.415 917 3	26.293 74	11
PEBP4	0.614 641 1	25.848 4	8
OR10R2	0.280 840 5	24.169 07	1
LY86	0.244 586 4	24.147 95	6
MAPK8IP3	0.326 483 5	23.914 71	16
DPYSL2	0.210 233 1	13.713 94	8

发现较多差异甲基化位点集中分布于其中两条染色体及CpG岛的其他区域。Gene Ontology分析显示,两组间差异甲基化基因参与如轴索导向、细胞黏附、细胞骨架组织等生物学功能,细胞骨架、轴突等细胞组分,钙离子结合等分子功能,而且ST3GAL2、GALNT18、GALNT9出现于粘蛋白型O-聚糖生物合成通路中。本研究应用焦磷酸测序方法对后续样本中的DPYSL2及ABI3BP基因进行测序以验证甲基化芯片的结果,但这两个基因在两组样本中的甲基化率差异无统计学意义。

本研究将功能聚类分析中出现的错误发现率 $<0.05$ 的基因输入PubMed进行检索,发现除了DPYSL2、ABI3BP基因外,基本没有与攻击行为相关的基因,但有文献显示部分基因与神经系统及精神疾病相关。比如CTNNA2基因(catenin alpha 2),其位于染

**表3** 两组间筛选出的前10个低甲基化基因及ABI3BP基因

高甲基化基因	甲基化 β 值差值	差异分值	染色体
IFI16	-0.671 059 7	-34.036 16	1
C4BPB	-0.378 424 3	-26.707 34	1
OR4C45	-0.268 771 4	-25.856 77	11
EBF3	-0.282 220 7	-25.752 74	10
TENM3	-0.295 678	-25.619 24	4
CHD7	-0.452 382	-25.214 34	8
RSPH10B	-0.275 623 1	-24.707 84	7
SLC25A21	-0.269 865 5	-24.600 03	14
HAS1	-0.236 176 1	-24.403 49	19
CHIA	-0.326 362 9	-23.505 31	1
ABI3BP	-0.273 253 1	-14.618 21	3

**表4** 有无攻击行为组外周血 DPYSL2、ABI3BP 基因甲基化率的比较(% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	CpG 岛甲基化率	t 值	P 值
<b>ABI3BP</b>				
有攻击行为组	16	27.438 ± 17.874	0.016	0.987
无攻击行为组	29	27.345 ± 18.832		
<b>DPYSL2</b>				
有攻击行为组	16	84.188 ± 25.761	-1.584	0.113
无攻击行为组	29	78.586 ± 23.567		

染色体 2p12, 编码 α N- 连环蛋白, 主要表达于人类大脑皮层。Schaffer 等<sup>[23]</sup>的研究显示, 巨脑回畸形(一种严重的人类大脑发育缺陷)患者的 CTNNA2 基因出现了双等位基因的截断突变。PHF21B 基因 (PHD finger protein 21B), 位于染色体 22q13.31, 编码皮质特异性 PHD 指蛋白, 其高表达于皮质发育的神经源性阶段。Basu 等<sup>[24]</sup>的研究显示, PHF21B 基因突变与人类的抑郁和智力迟钝有关。SCGN 基因 (secretagogin) 是一种存在于细胞质中的分泌钙结合蛋白基因, 位于染色体 6p22.2, 与氯化钾刺激钙流动和细胞增殖有关。有研究显示, 自闭症患儿血浆中 SCGN 基因的水平较低<sup>[25]</sup>, 提示 SCGN 基因可能参与了自闭症的发病机制。DPYSL2 基因位于染色体 8p21.2, 编码塌陷素反应中介蛋白。该基因与多种神经系统疾病有关, 其过度磷酸化可能与阿尔茨海默病的发病有关。此外, 一项研究提示, 这一基因的甲基化可能参与了神经损伤亚急性期时的分子机制<sup>[26]</sup>。另外, 本研究将上述 161 个差异甲基化基因输入 PubMed 数据库进行检索, 发现有研究显示 DPYSL2 基因、ABI3BP 基因与自杀行为相关。2018 年一项以参加过伊拉克或阿富汗战争的退伍士兵为参与者, 研究其自杀想法及行为的研究提出,

ABI3BP 基因涉及自杀行为的发生机制<sup>[27]</sup>。2012 年的一项以自杀死亡者大脑为样本的研究则指出, 自杀死亡者脑内 DPYSL2 基因表达发生改变<sup>[28]</sup>。此外, 还有两项研究指出, DPYSL2 基因参与了双相障碍的发病机制<sup>[29-30]</sup>。上述文献指出, DPYSL2 基因、ABI3BP 基因与自杀及双相障碍有关。之后, 本研究应用焦磷酸盐测序方法在两组样本中检测 DPYSL2 基因、ABI3BP 基因的甲基化程度, 但两组间的甲基化程度差异无统计学意义, 这或许和本研究的样本及样本量大小有关。对这些差异甲基化基因的进一步深入研究将会为明确 PBD 患者攻击行为发生的原因提供更多的依据。本研究是国内外第 1 次采用 850K 甲基化芯片筛选有或无攻击行为的 PBD 抑郁发作患者外周血中的差异甲基化位点及基因的研究, 但是本研究也有一些不足, 具体如下。①未评估其他环境因素对 DNA 甲基化的影响: DNA 甲基化同时受环境因素和遗传因素的影响, 但本文没有应用生活事件量表评估生活事件对受试者的影响。②未设立正常儿童青少年对照组: 本研究只有双相障碍伴或不伴攻击行为两组, 无正常对照组, 因此无法了解正常对照组样本与其余两组样本之间是否存在差异甲基化位点及基因。③验证样本量较少: 需要增加样本量进行验证, 同时测定患者体内相关差异甲基化基因的基因表达水平。

综上所述, 本研究结果提示伴有攻击行为的 PBD 抑郁患者 DNA 发生甲基化变化, 并出现差异甲基化基因, 这些发现为进一步明确 PBD 抑郁患者的攻击行为发生的原因提供了基础。此外, PBD 躁狂发作及缓解期攻击行为的基因甲基化可作为未来的研究方向。

**利益冲突** 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

**作者贡献声明** 构思与设计为邹韶红, 研究实施与资料收集为张沛文、迪丽娜孜·卡日、沈小琴, 论文撰写为张沛文, 论文修订为张沛文、邹韶红, 审校为邹韶红, 论文指导和项目获得资助为邹韶红、沈小琴

### 参 考 文 献

- [1] 世界卫生组织. ICD-10 精神与行为障碍分类 [M]. 范肖东, 汪向东, 于欣, 等, 译. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 92-103.
- [2] Alonso J, Petukhova M, Vilagut G, et al. Days out of role due to common physical and mental conditions: results from the WHO World Mental Health surveys [J]. Mol Psychiatry, 2011, 16(12): 1234-1246. DOI: 10.1038/mp.2010.101.
- [3] Hunt J, Birmaher B, Leonard H, et al. Irritability without elation in a large bipolar youth sample: frequency and clinical description [J]. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry, 2009, 48(7): 730-739. DOI: 10.1097/CHL.0b013e3181a565db.

- [ 4 ] Perlis RH, Dennehy EB, Miklowitz DJ, et al. Retrospective age at onset of bipolar disorder and outcome during two-year follow-up: results from the STEP-BD study[ J ]. *Bipolar Disord*, 2009, 11(4): 391-400. DOI: 10.1111/j.1399-5618.2009.00686.x.
- [ 5 ] Berkowitz L. Aversively stimulated aggression. Some parallels and differences in research with animals and humans[ J ]. *Am Psychol*, 1983, 38(11): 1135-1144. DOI: 10.1037//0003-066x.38.11.1135.
- [ 6 ] de Almeida RM, Cabral JC, Narvaes R. Behavioural, hormonal and neurobiological mechanisms of aggressive behaviour in human and nonhuman primates[ J ]. *Physiol Behav*, 2015, 143: 121-135. DOI: 10.1016/j.physbeh.2015.02.053.
- [ 7 ] Nock MK, Borges G, Bromet EJ, et al. Cross-national prevalence and risk factors for suicidal ideation, plans and attempts[ J ]. *Br J Psychiatry*, 2008, 192(2): 98-105. DOI: 10.1192/bjp.bp.107.040113.
- [ 8 ] Apter A. Clinical aspects of suicidal behavior relevant to genetics[ J ]. *Eur Psychiatry*, 2010, 25(5): 257-259. DOI: 10.1016/j.eurpsy.2010.01.008.
- [ 9 ] Doerfler LA, Connor DF, Toscano PJ. Aggression, ADHD symptoms, and dysphoria in children and adolescents diagnosed with bipolar disorder and ADHD[ J ]. *J Affect Disord*, 2011, 131(1/3): 312-319. DOI: 10.1016/j.jad.2010.11.029.
- [ 10 ] Kochman FJ, Hantouche EG, Ferrari P, et al. Cyclothymic temperament as a prospective predictor of bipolarity and suicidality in children and adolescents with major depressive disorder[ J ]. *J Affect Disord*, 2005, 85(1/2): 181-189. DOI: 10.1016/j.jad.2003.09.009.
- [ 11 ] Hauser M, Galling B, Correll CU. Suicidal ideation and suicide attempts in children and adolescents with bipolar disorder: a systematic review of prevalence and incidence rates, correlates, and targeted interventions[ J ]. *Bipolar Disord*, 2013, 15(5): 507-523. DOI: 10.1111/bdi.12094.
- [ 12 ] Barzman D, Eliassen J, McNamara R, et al. Correlations of inflammatory gene pathways, corticolimbic functional activities, and aggression in pediatric bipolar disorder: a preliminary study[ J ]. *Psychiatry Res*, 2014, 224(2): 107-111. DOI: 10.1016/j.psychres.2014.07.009.
- [ 13 ] Palumbo S, Mariotti V, Iofrida C, et al. Genes and aggressive behavior: epigenetic mechanisms underlying individual susceptibility to aversive environments[ J ]. *Front Behav Neurosci*, 2018, 12: 117. DOI: 10.3389/fnbeh.2018.00117.
- [ 14 ] van Dongen J, Nivard MG, Baselmans BM, et al. Epigenome-wide association study of aggressive behavior[ J ]. *Twin Res Hum Genet*, 2015, 18(6): 686-698. DOI: 10.1017/thg.2015.74.
- [ 15 ] Bani-Fatemi A, Jeremian R, Wang KZ, et al. Epigenome-wide association study of suicide attempt in schizophrenia[ J ]. *J Psychiatr Res*, 2018, 104: 192-197. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2018.07.011.
- [ 16 ] Murphy TM, Crawford B, Dempster EL, et al. Methylomic profiling of cortex samples from completed suicide cases implicates a role for PSORS1C3 in major depression and suicide[ J ]. *Transl Psychiatry*, 2017, 7(1): e989. DOI: 10.1038/tp.2016.249.
- [ 17 ] Jeremian R, Chen YA, De Luca V, et al. Investigation of correlations between DNA methylation, suicidal behavior and aging[ J ]. *Bipolar Disord*, 2017, 19(1): 32-40. DOI: 10.1111/bdi.12466.
- [ 18 ] Zhang Y, Chang Z, Chen J, et al. Methylation of the tryptophan hydroxylase<sup>2</sup> gene is associated with mRNA expression in patients with major depression with suicide attempts[ J ]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 3184-3190. DOI: 10.3892/mmr.2015.3748.
- [ 19 ] Kang HJ, Kim JM, Lee JY, et al. BDNF promoter methylation and suicidal behavior in depressive patients[ J ]. *J Affect Disord*, 2013, 151(2): 679-685. DOI: 10.1016/j.jad.2013.08.001.
- [ 20 ] 张明园, 何燕玲. 现代精神医学丛书 精神科评定量表手册[ M ]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2015: 143-147.
- [ 21 ] 张作记. 行为医学量表手册[ M ]. 北京: 中华医学电子音像出版社, 2005: 352-353.
- [ 22 ] Moran S, Arribas C, Esteller M. Validation of a DNA methylation microarray for 850, 000 CpG sites of the human genome enriched in enhancer sequences[ J ]. *Epigenomics*, 2016, 8(3): 389-399. DOI: 10.2217/epi.15.114.
- [ 23 ] Schaffer AE, Breuss MW, Caglayan AO, et al. Biallelic loss of human CTNNA2, encoding  $\alpha$ -N-catenin, leads to ARP2/3 complex overactivity and disordered cortical neuronal migration[ J ]. *Nat Genet*, 2018, 50(8): 1093-1101. DOI: 10.1038/s41588-018-0166-0.
- [ 24 ] Basu A, Mestres I, Sahu SK, et al. Phf21b imprints the spatiotemporal epigenetic switch essential for neural stem cell differentiation[ J ]. *Genes Dev*, 2020, 34(17-18): 1190-1209. DOI: 10.1101/gad.333906.119.
- [ 25 ] Alhowikan AM, Ayadhi LA, Halepoto DM. Secretagogin (SCGN) plasma levels and their association with cognitive and social behavior in children with autism spectrum disorder (ASD) [ J ]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2017, 27(4): 222-226.
- [ 26 ] Shi G, Zhou X, Wang X, et al. Signatures of altered DNA methylation gene expression after central and peripheral nerve injury[ J ]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(6): 5171-5181. DOI: 10.1002/jcp.29393.
- [ 27 ] Kimbrel NA, Garrett ME, Dennis MF, et al. A genome-wide association study of suicide attempts and suicidal ideation in U.S. military veterans[ J ]. *Psychiatry Res*, 2018, 269: 64-69. DOI: 10.1016/j.psychres.2018.07.017.
- [ 28 ] Kékesi KA, Juhász G, Simor A, et al. Altered functional protein networks in the prefrontal cortex and amygdala of victims of suicide[ J ]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e50532. DOI: 10.1371/journal.pone.0050532.
- [ 29 ] Fallin MD, Lasseter VK, Avramopoulos D, et al. Bipolar I disorder and schizophrenia: a 440-single-nucleotide polymorphism screen of 64 candidate genes among Ashkenazi Jewish case-parent trios[ J ]. *Am J Hum Genet*, 2005, 77(6): 918-936. DOI: 10.1086/497703.
- [ 30 ] Tabarés-Seisdedos R, Rubenstein JL. Chromosome 8p as a potential hub for developmental neuropsychiatric disorders: implications for schizophrenia, autism and cancer[ J ]. *Mol Psychiatry*, 2009, 14(6): 563-589. DOI: 10.1038/mp.2009.2.

(收稿日期: 2020-11-18)

(本文编辑: 赵金鑫)