

5-羟色胺转运体基因 LPR 及 5-羟色胺 1A 受体 C(-1019)G 基因多态性的联合作用与重性抑郁症的关联研究

关小妮¹, 张克让², 崔勇¹, 薛德旺¹, 段宏秋¹, 吕广有¹, 修梅红^{1*}

(1. 北京回龙观医院, 北京 100096;

2. 山西医科大学第一医院, 山西 太原 030001

* 通信作者: 修梅红, E-mail: xiumeihong97@163.com)

【摘要】目的 探讨 5-羟色胺转运体基因 LPR(5-HTT LPR) 多态性和 5-羟色胺 1A 受体(5-HT_{1A}R) C(-1019)G 基因多态性的联合作用与重性抑郁症的关系。**方法** 采用病例对照研究, 以 2005 年 10 月-2007 年 5 月在山西医科大学第一医院就诊的 197 例重性抑郁症患者为患者组, 选取同期该院体检中心与患者组性别、年龄匹配的健康对照者 197 例为对照组。应用聚合酶链反应技术(PCR)、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)及 DNA 直接测序法对两组的 5-HTT LPR 及 5-HT_{1A}R C(-1019)G 基因多态性进行检测。应用 UNPHASED 软件进行统计分析。**结果** 患者组与对照组的 5-HTT LPR 和 5-HT_{1A}R C(-1019)G 多态性位点基因型及等位基因分布频率差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。多态性联合作用分析显示, 患者组 G-S 等位基因组合频率高于对照组, 差异有统计学意义(21.4% vs. 12.4%, $P=0.022$)。**结论** 在中国汉族人群中, 5-HTT LPR 和 5-HT_{1A}R C(-1019)G 的联合作用与重性抑郁症存在关联, G-S 等位基因组合可能会增加重性抑郁症发病的危险性。

【关键词】 抑郁症; 5-羟色胺转运体; 5-羟色胺 1A 受体; 基因多态性

中图分类号: R749.4

文献标识码: A

doi: 10.11886/j.issn.1007-3256.2017.03.010

Association between the combination of serotonin transporter gene-linked polymorphic region (5-HTT LPR) and serotonin 1A receptor gene C(-1019)G polymorphism with major depressive disorder

Guan Xiaoni¹, Zhang Kerang², Cui Yong¹, Xue Dewang¹, Duan Hongqiu¹, Lyu Guangyou¹, Xiu Meihong^{1*}

(1. Beijing HuiLongGuan Hospital, Beijing 100096, China;

2. First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

* Corresponding author: Xiu Meihong, E-mail: xiumeihong97@163.com)

【Abstract】Objective To investigate the relationship between the combination of 5-HTT LPR and 5-HT_{1A}R C(-1019)G gene polymorphism with major depressive disorder. **Methods** The case-control study design was adopted in the study. 197 Chinese Han origin patients with major depressive disorder who came from the First Hospital of Shanxi Medical University from October 2005 to May 2007 were recruited as patient group. At the same time, 197 healthy controls matched age and sex frequencies with patient group from the same hospital were included the control group. Polymerase chain reaction (PCR), sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and DNA sequencing analysis were used to detect the genotype of 5-HTT LPR and 5-HT_{1A}R C(-1019)G in two groups. The UNPHASED software was used for statistical analysis. **Results** There was no significant differences of the distribution of genotype and alleles of 5-HTT LPR, 5-HT_{1A}R C(-1019)G between two groups (all $P>0.05$). The gene combination analysis indicated that the frequency of G-S allele combination in patient group was significantly higher than that in the control group (21.4% vs. 12.4%, $P=0.022$). **Conclusion** This study suggest that the combination of 5-HTT LPR and 5-HT_{1A}R C(-1019)G gene polymorphism is closely related with major depressive disorder in Chinese Han origin. The G-S allele combination may increase the risk of morbidity of major depressive disorder.

【Keywords】 Depressive disorder; Serotonin transporter; Serotonin 1A receptor; Gene polymorphism

抑郁症是一种常见的可导致自杀死亡的精神疾病, 已成为危害人类身心健康的主要疾病之一。研

究表明, 5-羟色胺(5-HT)系统功能降低和神经传递减少是抑郁症的发病机制之一。5-羟色胺转运

体(Serotonin transporter,5-HTT)分布于突触前膜,通过再摄取5-HT来调节突触间隙的5-HT水平,同时也是选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(Selective serotonin reuptake inhibitors,SSRIs)发挥作用的重要靶点。突触前膜的5-HT_{1A}自主受体被激活后可减少5-HT能神经元的电活动,同时它还通过自我反馈控制5-HT能神经传导。抗抑郁药能使5-HT_{1A}自身受体脱敏,从而加强5-HT神经传递。5-HTT影响5-羟色胺1A受体(serotonin 1A receptor,5-HT_{1A}R)的表达和浓度,两者相互协调共同调控突触间5-HT系统活动。人类5-HTT基因位于17号染色体长臂11.1-12区,该基因启动子区存在重要的缺失/插入多态性(5-HTT Linked polymorphic region,5-HTT LPR),可明显影响5-HTT的表达与功能活性,它的等位基因是14倍短重复的S等位基因和16倍长重复的L等位基因^[1]。5-HT_{1A}R基因位于第5号染色体q11.2-13区域,基因上游调控区内的C(-1019)G基因多态性可通过影响转录因子的结合位点控制基因产物的表达。目前国内关于5-HTT LPR、5-HT_{1A}R C(-1019)G基因多态性与抑郁症的关联性研究结果尚不一致^[2-3],且研究多集中在单基因多态性与抑郁症的相关性上,抑郁障碍被认为是一种多基因遗传疾病,单个候选易感基因不足以解释其发病机制,基因间联合作用与抑郁症的关联性研究有重要临床意义。因此,本研究将在分析单个基因多态性对重性抑郁症(Major Depression,MD)影响的基础上,再探讨上述两种基因多态性间的联合作用与重性抑郁症的相关性,进一步明确5-HTT LPR和5-HT_{1A}R C(-1019)G多态性在重性抑郁症发病过程中的作用。

1 对象与方法

1.1 对象

以2005年10月-2007年5月就诊于山西医科大学第一医院精神卫生科的门诊抑郁症患者为患者组。入组标准:①符合《精神障碍诊断与统计手册(第4版)》(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition,DSM-IV)中重性抑郁障碍诊断标准;②年龄≥18岁;③汉族;④汉密尔顿抑郁量表17项版(Hamilton Depression Scale-17 item,HAMD-17)评分≥17分。排除标准:①有严重躯体疾病者;②有遗传性疾病或其他重性精神障碍者。符合入组标准且不符合排除标准共197例,其中男

万方数据

性101例,女性96例;年龄18~63岁,平均(29.95±9.18)岁。选取同期在山西医科大学第一医院体检中心与患者组性别、年龄匹配的健康对照者197例为对照组,无严重躯体疾病和精神疾病家族史。其中男性91名,女性106名;年龄18~67岁,平均(29.64±9.58)岁。两组年龄、性别差异均无统计学意义($t=-0.322,P=0.748;\chi^2=1.016,P=0.313$)。本研究获山西医科大学第一医院伦理委员会批准。受试者及家属均签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 基因组DNA的提取

采用含EDTA抗凝剂的真空采血管抽取所有受试者外周静脉血2 mL后,双蒸水破红细胞,常规酚-氯仿法提取外周血基因组DNA,提取后将DNA样本于-20℃冰箱保存,用于基因分型分析。

1.2.2 基因多态性检测

1.2.2.1 5-HTT LPR 位点检测

采用聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction,PCR)对抽提的DNA进行扩增。引物由上海英骏生物技术有限公司合成。引物:5'-GGC GTT GCC GCT CTG AAT GC-3'(上游);5'-GAG GGA CTG AGC TGG ACA ACC AC-3'(下游)。PCR反应体系,为20 μL体系,基因组DNA约100 ng,2×GC缓冲液10 μL,2.5 mmol/L dNTP 2 μL,10 pmol/L上、下游引物各1 μL,Taq DNA聚合酶1 U。PCR反应条件:95℃预变性4 min;每一循环中95℃变性30 s,65℃退火30 s,72℃延伸45 s,10个循环;95℃变性30 s,65℃退火30 s,72℃延伸4 min 5 s,20个循环;72℃延伸7 min。PCR产物4℃保存,24 h内进行凝胶电泳。取上述PCR产物5 μL进行12%的聚丙烯酰胺凝胶电泳,置凝胶成像系统下观察结果。

1.2.2.2 5-HT_{1A}R C(-1019)G 位点检测

将DNA通过PCR进行扩增,引物:5'-GTT GTT TAC CTC TCC TTG TCC-3'(上游);5'-TAA ATC GTG TCA GCA TCC C-3'(下游)。PCR反应体系:为25 μL,其中含有60 ng基因组DNA,5 pmol/L dNTPs,4 pmol/L引物,10×PCR缓冲液和2 U Taq DNA聚合酶。PCR反应条件:94℃预变性5 min;每一循环中94℃预变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,35个循环;72℃延伸10 min。然后

于4℃保存。采用 DNA 测序技术检测 5 - HT_{1A}R C (- 1019) G 基因多态性。

1.3 统计方法

采用 SPSS 19.0 进行统计分析,应用 UNPHASED 软件分析基因多态性间的联合作用与抑郁症的关系。Hardy - Weinberg 遗传平衡采用拟合优度 χ^2 检验,两组间基因分布频率比较采用 χ^2 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结 果

2.1 Hardy - Weinberg 遗传平衡检验

1/1 代表野生纯合基因型,1/2 代表杂合基因型,2/2 代表突变纯合基因型,两组的 5 - HTT LPR ($\chi^2 = 1.703, P = 0.192$; $\chi^2 = 3.203, P = 0.074$) 和 5 - HT_{1A}R C (- 1019) G ($\chi^2 = 2.661, P = 0.103$;

$\chi^2 = 0.267, P = 0.605$) 多态性均符合 H - W 平衡 (P 均 > 0.05)。见表 1。

2.2 5 - HTT LPR 与 5 - HT_{1A}R C (- 1019) G 多态性位点基因型和等位基因频率分布

两组 5 - HTT LPR 和 5 - HT_{1A}R C (- 1019) G 多态性位点基因型及等位基因频率分布差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。见表 2。

2.3 5 - HTT LPR 和 5 - HT_{1A}R C (- 1019) G 联合作用对重症抑郁症的影响

5 - HTT LPR 和 5 - HT_{1A}R C (- 1019) G 各等位基因组合中, G - S 等位基因组合在两组的频率分布差异有统计学意义 ($P = 0.022$),经置换检验 (permutation) 进行 10 000 次校正检验后, Global P 值为 0.0388, $OR = 1.909$ 。见表 3。

表 1 两组基因多态性 H - W 平衡的拟合优度 χ^2 检验结果								
组 别	实际频数			理论频数			χ^2	P
	1/1	1/2	2/2	1/1	1/2	2/2		
患者组 ($n = 197$)								
5 - HTT LPR	17	69	111	13.463	76.074	107.463	1.703	0.192
5 - HT _{1A} R C(- 1019)G	100	87	10	104.529	77.942	14.529	2.661	0.103
对照组 ($n = 197$)								
5 - HTT LPR	27	76	94	21.447	87.107	88.447	3.203	0.074
5 - HT _{1A} R C(- 1019)G	116	72	9	117.279	69.442	10.279	0.267	0.605

注:5 - HTT LPR 多态性位点中 1/1 是 LL 型,1/2 是 LS 型,2/2 是 SS 型;5 - HT_{1A}R C (- 1019) G 多态性位点中 1/1 是 CC 型,1/2 是 CG 型,2/2 是 GG 型

表 2 两组 5 - HTT LPR 和 5 - HT _{1A} R C (- 1019) G 基因型及等位基因频率分布					
基因位点	基因型/等位基因	分布频率[$n(\%)$]		χ^2	P
		患者组 ($n = 197$)	对照组 ($n = 197$)		
5 - HTT LPR	LL	17 (8.6)	27 (13.7)	4.020	0.130
	LS	69 (35.0)	76 (38.6)		
	SS	111 (56.3)	94 (47.7)		
	L	103 (26.1)	130 (33.0)	3.560	0.067
	S	291 (73.9)	264 (67.0)		
5 - HT _{1A} R C (- 1019) G	CC	100 (50.8)	116 (58.9)	2.653	0.295
	CG	87 (44.2)	72 (36.5)		
	GG	10 (5.1)	9 (4.6)		
	C	287 (72.8)	304 (77.2)	1.956	0.199
	G	107 (27.2)	90 (22.8)		

注:LL、LS、SS、CC、CG、GG 为基因型;L、S、C、G 为等位基因

表 3 两组 5-HTT LPR 和 5-HT_{1A}R C(-1019)G 等位基因组合频率分布比较

等位基因组合	分布频率[n(%)]		χ^2	P	OR
	患者组(n = 197)	对照组(n = 197)			
C-L	80.2(0.204)	88.9(0.226)	2.631	0.419	1
C-S	206.8(0.525)	215.1(0.546)	0.001	3.912	1.065
G-L	22.8(0.058)	41.1(0.104)	2.166	0.564	0.615
G-S	84.2(0.214)	48.9(0.124)	7.686	0.022	1.909

3 讨 论

大量研究表明,5-HTT 和 5-HT_{1A}R 基因是抑郁症的重要候选基因,目前抑郁症发病机制的研究主要集中在 5-HTT LPR 和 5-HT_{1A}R C(-1019)G 多态性上^[2-4]。目前国内外关于 5-HTT LPR 在抑郁症发病中的作用结果报道不一致。本研究结果显示患者组和对照组 5-HTT LPR 各基因型及等位基因分布频率差异均无统计学意义(*P* 均>0.05),提示 5-HTT LPR 可能与重性抑郁症的发病无关,这与既往一些研究结果一致^[5-10]。肖红等^[11]认为 5-HTT LPR 与抑郁症的发病不存在相关性,但与抑郁症的严重程度相关,携带 SS 基因型抑郁症患者的严重程度高于 LL 基因型者,与 Kohen 等^[12]的观点一致。而 Bellivier 等^[13]研究认为抑郁严重程度与 5-HTT LPR 不相关。荟萃分析结果表明,5-HTT LPR 多态性与抑郁症有关,但在不同种族中的研究结果有所差异,如在欧洲人群中 SS 基因型是抑郁症的危险基因型,但亚洲人群该基因型却与抑郁症的发病无相关性^[14-15]。Eley 等^[16]在抑郁症中探讨了 5-HTT 基因和环境的交互作用,发现女性患者中 SS 基因型和高环境危险性是抑郁症发生的危险因素,但 Willeit 等^[17]发现 L 等位基因与抑郁症的发病有关。

关于 5-HT_{1A}R C(-1019)G 多态性与抑郁症相关性的研究较少,目前亦无定论。本研究结果显示,5-HT_{1A}R C(-1019)G 的基因型及等位基因分布在患者组和对照组间差异均无统计学意义,说明 5-HT_{1A}R C(-1019)G 多态性与重性抑郁症的发生可能无关,与在西班牙重性抑郁患者中的研究结果一致^[18]。Huang 等^[19]也未发现此位点多态性与单相抑郁症、双相抑郁症及自杀倾向之间有明显相关。而 Lemonde 等^[20]对加拿大患者中的研究结果显示,抑郁症组 G 等位基因频率高于健康对照组,抑郁症组纯合 GG 基因型在患者组中的频率是健康对照组的 2 倍,说明 5-HT_{1A}R C(-1019)G 基因位点多态性和重性抑郁症有很大关联。有研究在健康

万方数据

人中发现了 5-HT_{1A}R C(-1019)G 基因位点存在种族差异性,如在欧洲白种人中,C 等位频率为 61.2%^[21],而在本研究中,C 等位基因频率为 77.2%。本研究与既往研究结果的差异可能是 5-HT_{1A}R C(-1019)G 基因位点具有种族差异性所致。

抑郁症是多基因疾病,有许多潜在的候选基因,因此,本研究把重点放在多个微效基因的联合作用上。目前关于 5-HTT、5-HT_{1A}R 基因联合作用与重性抑郁症相关研究的报道不多,Neumeister 等^[22]在一篇综述中提到 5-HTT 和 5-HT_{1A}R 多基因间的联合效应可能与抑郁症有关。Barbara 等^[23]对西班牙重性抑郁症患者中的研究显示,5-HT_{1A}R C(-1019)G 和 5-HTT LPR 联合会影响西酞普兰疗效,危险基因联合(SS-GG)携带者对西酞普兰的临床疗效差。本研究通过 UNPHASED 软件分析得出校正后的 Global *P* 值,降低了假阳性结果的出现。本研究结果显示,5-HTT LPR 和 5-HT_{1A}R C(-1019)G 两个位点多态性的单个位点与重性抑郁症的发生无关,但两个位点之间的联合与重性抑郁症的发生有关。G-S 等位基因组合的频率在患者组中高于对照组(*P*=0.022),以 C-L 为参照,G-S 的 OR 值为 1.909,提示 G-S 等位基因组合有增加重性抑郁症发病的危险性。这可能是由于启动子决定基因的表达,G 等位基因削弱转录调控因子对基因表达的抑制作用,增加 5-HT_{1A}自身受体的表达,从而减少 5-HT 传递^[22]。S 等位基因通过减少基因的转录和蛋白的表达而使 5-HT 的回吸收率减少。

基因多态性与抑郁症相关性研究结果不一致的原因,可能是因为抑郁症属于复杂疾病,发病受多个易感基因和环境的共同影响,每一个致病基因单独所起的作用较小。这几个基因多态性也可能与附近功能多态性之间存在连锁不平衡,并通过多态性间的效应联合而发挥作用。种族差异使种族间的单倍体域大小可能不一样,一些基因多态性在种族中还具有影响转录活性的不同亚型,以至于一项研究结果很难在其他的种族中得到验证。本研究由于样本量偏小,所检测的多态性位点少,统计效能比较低,因此不排除假阳性结果

的可能。本研究初步探讨遗传改变与抑郁症的关系，未来应在大样本量的基础上,对 5-HTT 和 5-HT_{1A}R 上可能和抑郁症有关的所有多态性位点进行检测,并结合功能影像学等研究进展,综合考虑、系统分析,以进一步阐明 5-HTT 和 5-HT_{1A}R 基因与抑郁症的关系。

参考文献

[1] Domschke K, Tidow N, Schwarte K, et al. Serotonin transporter gene hypomethylation predicts impaired antidepressant treatment response[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2014, 17(8): 1167-1176.

[2] Sharpley CF, Palanisamy SK, Glyde NS, et al. An update on the interaction between the serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress and depression, plus an exploration of non-confirming findings[J]. *Behav Brain Res*, 2014, 273: 89-105.

[3] Kaufman J, DeLorenzo C, Choudhury S, et al. The 5-HT_{1A} receptor in major depressive disorder [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2016, 26(3): 397-410.

[4] Benedetti F, Radaelli D, Poletti S, et al. Association of the C(-1019)G 5-HT_{1A} promoter polymorphism with exposure to stressors preceding hospitalization for bipolar depression [J]. *J Affect Disord*, 2011, 132(1-2): 297-300.

[5] Mendlewicz J, Massat I, Souery D, et al. Serotonin transporter 5HTTLPR polymorphism and affective disorders: no evidence of association in a large European multicenter study[J]. *Eur J Hum Genet*, 2004, 12(5): 377-382.

[6] Risch N, Herrell R, Lehner T, et al. Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR), stressful life events, and risk of depression: a meta-analysis[J]. *JAMA*, 2009, 301(23): 2462-2471.

[7] Taylor AE, Munafò MR. Triangulating meta-analyses: the example of the serotonin transporter gene, stressful life events and major depression[J]. *BMC Psychol*, 2016, 4(1): 23.

[8] Lasky-Su JA, Faraone SV, Glatt SJ, et al. Meta-analysis of the association between two polymorphisms in the serotonin transporter gene and affective disorders[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2005, 133B(1): 110-115.

[9] Uher R. Gene-environment interactions in common mental disorders: an update and strategy for a genome-wide search[J]. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, 2014, 49(1): 3-14.

[10] Minov C, Baghai TC, Schüle C, et al. Serotonin-2A-receptor and -transporter polymorphisms: lack of association in patients with major depression[J]. *Neurosci Lett*, 2001, 303(2): 119-122.

[11] 肖红, 姚辉, 郭苏婉, 等. 中国人群 5-羟色胺转运蛋白基因多态性与抑郁症及 5-羟色胺摄取抑制剂类抗抑郁药治疗效果的关系[J]. *中国组织工程研究*, 2006, 10(22): 187-189.

[12] Kohen R, Myaing MT, Richards J, et al. Depression persistence and serotonin transporter genotype in adolescents under usual care conditions[J]. *J Child Adolesc Psychopharmacol*, 2013, 23(4): 290-294.

[13] Bellivier F, Szöke A, Henry C, et al. Possible association between serotonin transporter gene polymorphism and violent suicidal behavior in mood disorders[J]. *Biol Psychiatry*, 2000, 48(4): 319-322.

[14] Kiyohara C, Yoshimasu K. Association between major depressive disorder and a functional polymorphism of the 5-hydroxytryptamine (serotonin) transporter gene: a meta-analysis[J]. *Psychiatr Genet*, 2010, 20(2): 49-58.

[15] Lotrich FE, Pollock BG. Meta-analysis of serotonin transporter polymorphisms and affective disorders [J]. *Psychiatr Genet*, 2004, 14(3): 121-129.

[16] Eley TC, Sugden K, Corsico A, et al. Gene-environment interaction analysis of serotonin system markers with adolescent depression [J]. *Mol Psychiatry*, 2004, 9(10): 908-915.

[17] Willeit M, Praschak-Rieder N, Neumeister A, et al. A polymorphism (5-HTTLPR) in the serotonin transporter promoter gene is associated with DSM-IV depression subtypes in seasonal affective disorder[J]. *Mol Psychiatry*, 2003, 8(11): 942-946.

[18] Arias B, Arranz MJ, Gasto C, et al. Analysis of structural polymorphisms and C-1018G promoter variant of the 5-HT(1A) receptor gene as putative risk factors in major depression[J]. *Mol Psychiatry*, 2002, 7(9): 930-932.

[19] Huang YY, Battistuzzi C, Oquendo MA, et al. Human 5-HT_{1A} receptor C(-1019)G polymorphism and psychopathology[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2004, 7(4): 441-451.

[20] Lemonde S, Turecki G, Bakish D, et al. Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide [J]. *J Neurosci*, 2003, 23(25): 8788-8799.

[21] Oo KZ, Aung YK, Jenkins MA, et al. Associations of 5HTTLPR polymorphism with major depressive disorder and alcohol dependence: a systematic review and meta-analysis[J]. *Aust N Z J Psychiatry*, 2016, 50(9): 842-857.

[22] Neumeister A, Young T, Stastny J. Implications of genetic research on the role of the serotonin in depression: emphasis on the serotonin type 1A receptor and the serotonin transporter [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2004, 174(4): 512-524.

[23] Arias B, Catalán R, Gastó C, et al. Evidence for a combined genetic effect of the 5-HT(1A) receptor and serotonin transporter genes in the clinical outcome of major depressive patients treated with citalopram[J]. *J Psychopharmacol*, 2005, 19(2): 166-172.

(收稿日期:2016-09-13)
(本文编辑:唐雪莉)