

精神分裂症患者白细胞介素 1 β 基因单核苷酸多态性及与生化指标的关系*

李立青, 祝 扬, 宋瑞华, 赵春海, 王晓玲, 潘 莉(解放军第二六一医院, 北京 100094)

【摘要】 目的 研究白细胞介素(IL)1 β 基因 rs146219183 位点在精神分裂症患者和健康对照组中的单核苷酸多态性, 并测定精神分裂症患者一些生化指标和其单核苷酸多态性的关系。方法 查询 rs146219183 位点的基因序列, 设计引物并合成, 扩增后测序得到每个标本的等位基因和基因型。统计分析患者组和对照组等位基因, 基因型是否存在统计学差异。用全自动生化分析仪检测精神分裂症患者血清中肝功能、肾功能及血脂等生化指标水平, 统计分析不同等位基因、基因型患者之间差异。结果 得到了 100 例精神分裂症患者和 100 例健康对照者的 IL-1 β 基因 rs146219183 位点的单核苷酸多态性, 且测定了精神分裂症患者的 16 项生化数据, 经过统计学分析发现, rs146219183 位点在精神分裂症患者和健康对照者中的 AA、AT 和 TT 3 种基因型频率上差异有统计学意义($\chi^2 = 12.0547, P = 0.0024$), A 和 T 两种等位基因频率差异也有统计学意义($\chi^2 = 8.1602, P = 0.0043$), 且 AA、AT 和 TT 3 种不同基因型患者的生化指标 CA、ALKP 和 GGT 差异也有统计学意义($P < 0.05$)。结论 IL-1 β rs146219183 位点的单核苷酸多态性与精神分裂症有关, 且不同基因型精神分裂症患者之间其生化指标 CA、ALKP 和 GGT 存在差异。

【关键词】 精神分裂症; 白细胞介素 1 β ; SNP; 基因型; 生化指标

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.21.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)21-2960-03

Association of single nucleotide polymorphisms of IL-1 β gene in schizophrenia patient and biochemistry indicators* LI Li-qing, ZHU Yang, SONG Rui-hua, ZHAO Chun-hai, WANG Xiao-ling, PAN Li (261 Hospital of PLA, Beijing 100094, China)

【Abstract】 Objective To study the single nucleotide polymorphisms of rs146219183 in IL-1 β gene in schizophrenia patients and healthy people, to detect some biochemistry indicators in schizophrenia patients and to investigate the relation between these biochemistry indicators and the single nucleotide polymorphisms. Methods Firstly the sequence of rs146219183 was inquired, then the primers were designed and synthesized. After amplification the allele and genotype of each sample were obtained by sequencing. Then total 100 schizophrenia patients and 100 healthy people were genotyped by PCR test. Some clinical biochemical indicators of the liver function, renal function and blood lipids were detected by the fully automatic biochemical analyzer. The differences among the patients with different alleles and genotypes were statistically analyzed. Results The single nucleotide polymorphisms of rs146219183 in IL-1 β gene in 100 schizophrenia patients and 100 healthy people was obtained. 16 biochemical indicators were detected. The statistical analysis found that the AA, AT and TT3 genotype frequency of rs146219183 had statistical difference between the schizophrenia patients and healthy people ($\chi^2 = 12.0547, P = 0.0024$). The A and T allele frequency also had statistical difference ($\chi^2 = 8.1602, P = 0.0043$). Among the three groups of patients with different genotypes of AA, AT and TT3, the differences in biochemical indicator CA, ALKP and GGT also had statistical significance. Conclusion The single nucleotide polymorphisms of rs146219183 in IL-1 β gene is associated with schizophrenia. The differences of biochemical indicator CA, ALKP and GGT exist in schizophrenia patients with different genotypes.

【Key words】 schizophrenia; IL-1 β gene; SNP; genotype; biochemical indicator

白细胞介素(IL)是由淋巴细胞、单核细胞或其他非单核细胞产生的细胞因子, 在细胞间相互作用、免疫、炎症和造血过程中起重要调节作用。IL-1 β 主要产生于单核-巨噬细胞、树突状细胞, 主要作用为增加 NK 细胞和单核-巨噬细胞的活性, 诱导其他细胞产生 IL-2、IL-6、IL-8, 最终作用于中枢神经系统^[1-2]。许多研究显示精神分裂症患者血清中 IL-1 β 水平与健康对照者之间存在明显差异^[3-4], 这种差异大多来源于基因的差异。

随着近年来科学技术的发展, 发现其基因多态性与多种疾病的发生存在着密切关系, 但是与精神分裂症相关的研究并不是很多。本研究探讨了 IL-1 β 基因 rs146219183 位点的多态性与精神分裂症的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 100 例精神分裂症血标本(患者组)和 100 例健康对照血标本(对照组), 健康对照者为本院健康体检

* 基金项目: 首都医学发展科研基金资助项目(2009-3-239)。

作者简介: 李立青, 女, 博士, 副主任技师, 主要从事分子生物学领域。

中心留取的 20~40 岁健康者的标本。标本均为两管,一管为乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管采集,用于提取 DNA,另一管用带分离胶的采血管采集,用于分离血清备用。

1.2 试剂及仪器 (1)试剂:dNTP(10 mmol/L each, TaKaRa), 虾碱性磷酸酶(SAP, 1U/μL), 核酸外切酶(Exo I, 20 U/μL, Biolabs), 从人全血中提取 DNA 的试剂盒(Promega, 批号 214567)。(2)仪器:DU800 紫外/可见光分光光度计和 BakeMan 的聚合酶链反应(PCR)仪。

1.3 方法

1.3.1 基因组 DNA 的提取 采用 Promega 公司的人基因组 DNA 提取试剂盒提取人外周血 DNA,具体操作方法按照说明书进行,提取完成后用 DU800 紫外/可见光分光光度计检测其纯度和浓度,-80 ℃冰箱冷冻保存。

1.3.2 引物的设计 从 NCBI 网站上查到 IL-1β rs146219183 位点附近的 DNA 序列,用软件 Primer5.0 设计引物,序列由赛百盛公司合成,-20 ℃储存备用。

1.3.3 试验步骤 (1)准备基因组 DNA 实验前将患者组 DNA 和健康对照组 DNA 稀释至 10 ng/μL;(2)用 BakeMan 的 PCR 仪进行 PCR 反应;(3)用基因组纯化试剂盒纯化并回收 DNA 后送赛百盛公司进行测序。

1.3.4 将用带分离胶的采血管采集的血标本 3 700 r/min 离心 7 min,提取血清,用日立 AU640 全自动生化分析仪检测标本中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALKP)、谷氨酰基转肽酶(GGT)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、钾(K)、钠(NA)、氯(CL)、钙(CA)、葡萄糖(GLU)、肌酐(CRE)、尿素(UREA)、尿酸(UA)、三酰甘油(TRIG)和总胆固醇(CHOL)的水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析,按照 rs146219183 的 3 种基因型,分析不同基因型患者之间的生化指标是否存在差异,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 引物设计结果 rs146219183 上游 5'-CCC ATA GCA TCT TTG TCC-3';下游 5'-ACC CTA AGG CAG GCA GTT-3';Tm=53°,产物 413 bp。

2.2 提取的人基因组 DNA 质量 经检测,提取的基因组 DNA 浓度在 200 ng/μL 左右,A260/A280 均可达到 1.8~2.0。

2.3 患者组和健康对照组标本 rs146219183 的基因型 患者组中 AA、AT 和 TT 3 种基因型的人数分别是 24、28、48 例,对照组中 3 种基因型的人数分别是 15、52、33 例,基因型频率两组比较差异有统计学意义(P=0.002 4)。A 和 T 两种等位基因频率差异也有统计学意义(P=0.004 3)。见表 1。

表 1 精神分裂症和对照组 rs146219183 的基因型和等位基因频率(n)

组别	n	基因型频率			等位基因频率	
		AA	AT	TT	A	T
患者组	100	24	28	48	76	124
对照组	100	15	52	33	82	118
χ ²		12.054 7			8.160 2	
P		0.002 4			0.004 3	

2.4 不同基因型精神分裂患者生化指标 rs146219183 位点不同基因型之间的生化指标水平比较,差异有统计学意义(P<0.05),见表 2。AA 和 AT 两种基因型精神分裂症中差异有统计学意义(P<0.05)的生化指标是 GGT;AT 和 TT 两种基因型患者之间差异有统计学意义(P<0.05)的生化指标也是 GGT;AA 和 TT 两种基因型之间差异有统计学意义(P<0.05)的生化指标是 CA 和 ALKP,见表 3。其他生化指标在 rs146219183 不同基因型之间差异无统计学意义(P>0.05)。

表 2 不同基因型精神分裂症患者生化指标的均数和标准差(̄x±s)

基因型	CA(mmol/L)	ALKP(IU/L)	GGT(IU/L)
AA	2.360±0.214	99.6±14.6	19.8±7.6
AT	2.403±0.206	105.4±15.6	23.8±8.6
TT	2.463±0.194	108.3±12.6	20.1±4.2

表 3 不同基因型间精神分裂症生化指标的 P 值

基因型	CA	ALKP	GGT
AA AT	0.460 5	0.174 8	0.008 4
AT TT	0.231 0	0.378 7	0.014 0
AA TT	0.048 7	0.010 8	0.829 5

3 讨 论

目前精神分裂症的发病机制尚未阐明,但已被证明是一个与环境 and 发育因素有关的多基因疾病,其遗传基因的多态性,使精神分裂症的临床表现、治疗效果和复发率差异较大,但对其易感基因的定位仍不明确。精神分裂症也存在着免疫紊乱,反映免疫状况的细胞因子的基因多态性成为人们研究精神分裂症易感性的热点^[5-6]。

不同个体其细胞因子分泌量差异很大,这种差异并非完全因免疫调节所致,而是与细胞因子基因型变异有关,细胞因子基因多态性影响个体的细胞因子表达水平^[7]。细胞因子 IL-1β 主要产生于单核-巨噬细胞、树突状细胞,主要作用是增加 NK 细胞和单核细胞的活性,诱导其他细胞产生 IL-2、IL-6、IL-8。rs146219183 位点为 IL-1β 基因上一个 SNP 位点,位于人 IL-1β 基因的第 7 个外显子上,造成 IL-1β 成熟肽的 123 位氨基酸出现错义突变,由 AGC 突变成 TGC,即由丝氨酸突变为半胱氨酸。由此可能导致基因表达的差异,导致人血清中 IL-1β 水平发生变化。

本研究中 IL-1β 基因 rs146219183 位点的单核苷酸多态性在患者组和对照组之间的差异明显,基因型和等位基因频率在两组间差异均有统计学意义(P<0.05)。基因型为 AA 和 TT 的人更易患精神分裂症。生化指标结果显示 AA 型患者 CA、ALKP 和 GGT 均低于 AT 和 TT 型患者,TT 型患者 CA 和 ALKP 均高于 AT 和 AA 型患者。神经冲动的传导、神经介质的释放、内外分泌腺激素的分泌等都需要钙离子的参与^[8]。碱性磷酸酶可直接参加磷代谢,在钙、磷的消化、吸收、分泌及骨化过程中发挥重要作用^[9],与精神分裂症的关系还不明确。GGT 在蛋白质生物合成过程中参与谷氨酸的肽键形成,中枢谷氨酸功能不足可能是精神分裂症的致病原因之一^[10]。谷氨酸被认为是大脑的控制器,因为它可以兴奋中枢神经系统的所

有神经元,由此也可部分解释精神分裂症的发病与发病前智商有关^[11]。基因型与生化指标的差异是否真的存在因果关系,如果有关系其机制又是什么,这一系列问题有待进一步的研究来揭示。

总之,本研究结果表明中国人群 IL-1 β 基因 rs146219183 位点的单核苷酸多态性与精神分裂症存在关联性,其基因型频率和等位基因频率在患者组和对照组之间差异明显,AA 和 TT 型的人均易感精神分裂症。且发现 3 种不同基因型的精神分裂症患者之间其生化指标 CA、ALKP 和 GGT 差异明显。

参考文献

[1] 阴永彬,何静,杨虎权. 首发精神分裂症患者细胞因子水平对照研究[J]. 临床心身疾病杂志,2011,17(1):4-6.

[2] 张伟,宋学勤,吕路线,等. 精神分裂症 IL-1 β TNF- α 基因多态性研究[J]. 临床心身疾病杂志,2013,19(1):1-4.

[3] Rosa A, Peralta V, Papiol S, et al. Interleukin-1beta (IL-1beta) gene and increased risk for the depressive symptom-dimension in schizophrenia spectrum disorders [J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2004, 124B (1):10-14.

[4] Song XQ, Chen XM, Zhang W, et al. Study of adiponectin, IL-1 β , IL-6 and TNF- α in first episode drug naive schizophrenia [J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2013, 93(41): 3256-3260.

[5] Anna M, Fineberg, Lauren M, et al. Inflammatory Cyto-

kines and Neurological and Neurocognitive Alterations in the Course of Schizophrenia, biochemical psychiatry [J]. 2013, 73(10):951-966.

[6] Shibuya M, Watanabe Y, Nunokawa A, et al. Interleukin 1 beta gene and risk of schizophrenia: detailed case-control and family-based studies and an updated meta-analysis [J]. Hum Psychopharmacol, 2014, 29(1):31-37.

[7] 宋学勤,陈旭梅,张伟,等. 脂联素及白细胞介素-1 β 等细胞因子在首发未用药精神分裂症患者中的作用[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(41):3256-3260.

[8] 李立青,田亚平,董矜,等. ACTN3 基因单核苷酸多态性与运动能力的关系及与生化指标的关系[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(2):191-194.

[9] 王秋颖. 碱性磷酸酶特性及其应用的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2011, 38(1):157-161.

[10] 温盛霖,程敏锋,王厚亮,等. 精神分裂症患者血清白蛋白、尿酸、胆红素和谷酰转氨酶水平的研究[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版, 2012, 6(19):5922-5925.

[11] Khandaker GM, Barnett JH, White IR, et al. A quantitative meta-analysis of population-based studies of premorbid intelligence and schizophrenia [J]. Schizophr Res, 2011, 132(2/3):220-227.

(收稿日期:2014-03-16 修回日期:2014-05-20)

(上接第 2959 页)

Brain Tumor Pathol, 2011, 28(3):191-196.

[2] Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults [J]. N Engl J Med, 2008, 359(5):492-507.

[3] Piccolo SR, Frey LJ. Clinical and molecular models of glioblastoma multiforme survival [J]. Int J Data Min Bioinform, 2013, 7(3):245-265.

[4] 秦优优,杨学伟,崔武,等. siRNA-Smad3 对乳腺癌 MCF-7 细胞株 CyclinE 表达影响的研究[J]. 黑龙江医药科学, 2011, 34(4):67-68.

[5] Flores O, Wang Z, Knudsen KE, et al. Nuclear targeting of cyclin-dependent kinase 2 reveals essential roles of cyclin-dependent kinase 2 localization and cyclin E in vitamin D-mediated growth inhibition [J]. Endocrinology, 2010, 151(3):896-908.

[6] 王明玉,王文静,宋现让. RNA 干扰在乳腺肿瘤治疗中的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(2):272-275.

[7] Dong X, Liu A, Zer C, et al. siRNA inhibition of telomerase enhances the anti-cancer effect of doxorubicin in breast cancer cells [J]. BMC Cancer, 2009, 9:133.

[8] 呼格吉乐,张军力,段美庆,等. 新靶点 CDK2 干扰 RNA 对人脑胶质瘤增殖影响 [J]. 中国公共卫生杂志, 2013, 6(29):855-857.

[9] 李白翎,杜大海,张冠鑫,等. 小干扰 RNA 抑制 Δ Np63 α 表达对人食管鳞癌细胞生物学特性的影响 [J]. 第二军医大学学报, 2013, 34(8):813-818.

[10] Quon K, Kassner PD. RNA interference screening for the discovery of oncology targets [J]. Expert Opin Ther Targets, 2009, 13(9):1027-1035.

[11] Galia A, Calogero AE, Condorelli R, et al. PARP-1 protein expression in glioblastoma multiforme [J]. Eur J Histochem, 2012, 56(1):e9.

(收稿日期:2014-01-15 修回日期:2014-03-10)

