· 专题报道之七 ·

TPH-2 基因 rs 4570625 和 G1463A 交互作用与单相抑郁症关系*

杨秀贤，乔正学，邱晓惠，王琳，马靖松，焦阳，王鹏，杨艳杰

摘　要：目的　探讨色氨酸羟化酶 2（TPH-2）基因 rs4570625 和 G1463A 的交互作用与单相抑郁症的关系。**方法**　提取中国北方地区 300 例单相抑郁症患者（病例组）和 300 名健康对照者（对照组）基因组 DNA，采用 PCR 技术分别扩增包含 TPH-2 基因 rs4570625 和 G1463A 位点的基因组 DNA 片段，将 PCR 产物直接测序检测病例组及对照组的基因型，应用非条件 logistic 回归模型分析 rs4570625 和 G1463A 基因的交互作用。**结果**　病例组与对照组单核苷酸多态性基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律（$P > 0.05$）；单相抑郁症组与健康对照组 TPH-2 基因 rs4570625 位点基因型及等位基因频率比较，差异无统计学意义；G1463A 基因型及等位基因频率 2 组比较差异均有统计学意义（均 $P < 0.01$），病例组携带的基因型 G/G、A/G、A/A 频率分别为 6.0%、18.3%、75.7%，对照组分别为 57.3%、2%、40.7%；交互作用分析显示，rs4570625 TG 基因型与 G1463A 基因型对单相抑郁症患病具有正交互作用（$OR_{AB} = 5.539$，$OR_A = 0.747$，$OR_B = 0.024$，$OR_I > 1$）。**结论**　rs4570625 与 G1463A 变异之间的交互作用在单相抑郁症发病机制中具有重要意义。

关键词：色氨酸羟化酶 2（TPH-2）；交互作用；抑郁症

中图分类号：R 749　**文献标志码：**A　**文章编号：**1001-0580(2014)05-0560-03　DOI：10.11847/zgggws2014-30-05-06

Association of interaction of tryptophan hydroxylase isoform (TPH-2) genes with uniplor deression

YANG Xiu-xian, QIAO Zheng-xue, QIU Xiao-hui, et al (*Department of Medical Psychology, School of Public Health, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang Province* 150086, China)

Abstract: Objective　To explore the association of the interaction between tryptophan hydroxylase isoform (TPH-2) gene rs4570625 and G1463A with uniplor deression. **Methods**　We collected specimens of peripheral blood from 300 uniplor depression patients and 300 healthy controls in a mental hospital in Harbin city. PCR was used to detect the polymorphisms of rs4570625 and G1463A, and logistic regression model was used to analyze the interaction of rs4570625 and G1463A. **Results**　The genotypic frequences of the single nucleotide polymorphism (SNP) did not deviant from Hardy-Weinberg equilibrium in both case and control groups ($P > 0.05$). Compared with the control group, no significant difference in genotypes and alleles of TPH2 gene rs4570625 was found in patient group ($P > 0.05$). There were significant differences in G/G, A/G, and A/A frequencies of TPH2 gene G1463A between the patient group (6.0%, 18.3%, and 75.7%) and control group (57.3%, 2%, and 40.7%). There was a positive interaction between rs4570625 and G1463A in uniplor depression patients (odds ratio $[OR]_{AB} = 5.539$, $OR_A = 0.747$, $OR_B = 0.024$, $OR_I > 1$). **Conclusion**　The interaction between rs4570625 and G1463A plays an important role in the incidence of uniplor depression.

Key words: tryptophan hydroxylase-2; interaetion; depression

抑郁症是一种高患病率、高复发率、高自杀率和高致残率的严重精神疾患[1]。在全球疾病负担的 10 种主要原因中排列第 5 位，据预测，到 2020 年将跃升至第 2 位[2]。迄今为止，抑郁症发病机制尚未明确。5-羟色胺（5-hydroxytryptamine，5-HT）系统异常多年来一直被认为是抑郁症及自杀行为主要的神经生物学基础[3]，色胺酸羟化酶-2（tryptophan hydroxylase-2，TPH-2）是合成 5-HT 的限速酶，在中枢神经系统 5-HT 的合成中起重要作用。本研究于 2009—2011 年对 300 例抑郁症患者和 300 名健康对照者的血样进行 PCR 检测，探讨 TPH-2 基因 rs4570625 与 G1463A 位点单核苷酸多态性的交互作用与单相抑郁症关系。

1　对象与方法

1.1　对象　选取 2009—2011 年在哈尔滨医科大学附属第一医院就诊的单相抑郁症患者 300 例为病例组。纳入标准：由 2 名中级职称的精神科医生按照美国精神障碍诊断与统计手册第 4 版单相抑郁症诊断标准[4]进行诊断，汉族，2 周内未接受过抗抑郁治

* **基金项目：**国家自然科学基金（81202213；31271093）；教育部博士点基金（20102307110020）
作者单位：哈尔滨医科大学公共卫生学院医学心理学教研室，黑龙江 哈尔滨 150081
作者简介：杨秀贤（1978 -），女，黑龙江哈尔滨人，博士在读，研究方向：不同人群心理卫生。
通讯作者：杨艳杰，E-mail：yanjie1965@yahoo.com.cn
数字出版日期：2014 - 3 - 17 9:03
数字出版网址：http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20140317.0903.008.html

疗,排除脑器质性精神障碍及其他精神疾病、遗传疾病家族史及精神发育迟滞、痴呆患者和器质性疾病,排除资料不全以及近期接受过输血治疗者。对照组为在医院体检的健康汉族人,按照与病例组年龄相差≤3 岁进行 1:1 匹配,共 300 人,其家系无物质依赖者、无遗传疾病、两系三代中无异族通婚史,排除重大躯体疾患、遗传性疾病和精神疾病,且无血缘关系。所有研究对象均知情同意。

1.2　方法

1.2.1　问卷调查　由临床精神科医生采用汉密尔顿抑郁量表(Hamilton Depression Rating Scale for Depression, HAMD)[5]以交谈与观察方式对研究对象进行评定。该量表主要包括:焦虑/躯体化、体重、认知障碍、日夜变化、迟缓、睡眠障碍以及绝望感 7 个因子。该量表大部分采用 0 ~ 4 分的 5 级评分法,少数项目为 0 ~ 2 分 3 级评分。总分评定信度系数为 0.99,效度系数为 0.92。结果判定:总分 < 8 分,无抑郁症状;8 ~ 20 分为轻度抑郁;21 ~ 35 分为中度抑郁; > 35 分为重度抑郁。本研究入选病例要求总分 > 20 分。

1.2.2　基因组 DNA 提取　采集研究对象外周静脉血 10 mL, −80 ℃保存。4 周内提取 DNA, DNA 采用人类基因组 DNA 提取试剂盒(AxyPrep 血基因组 DNA 小量试剂盒,为杭州爱思进生物技术有限公司生产),按说明书进行提取。琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的完整性并定量(上海华舜生物工程有限公司)。

1.2.3　PCR 扩增及产物测序　应用 Primer 3.0 软件设计引物。rs4570625 位点的反应体系及反应条件:反应体系 25 μL,其中包括上下游引物各 1 μL,模板 DNA 2 μL, PCR 扩增试剂(北京康为试剂公司)用中文 12.5 μL, 94 ℃预变性 5 min 后,经过94 ℃ 1 min、52 ℃ 1 min、72℃ 1 min,共 30 个循环,72 ℃ 延伸 10 min。PCR 纯化产物采用 ABI3730DNA 分析仪(上海美季生物科技有限公司)直接测序。G1463A 位点的反应体系及反应条件:PCR 反应体系 25 μL,其中包括上下游引物各 1 μL,探针1 μL,模板 DNA 2.5 μL, PCR 扩增试剂 12.5 μL。95 ℃预变性5 min 后,(95 ℃ 5 s, 60 ℃ 30 s) ×40 个循环。采用 SDS 2.0 图像分析软件 Allelic Discrimination 程序,通过检测不同等位基因所标的羧基荧光素试剂和 5′-六氯荧光素氨基磷酸酯荧光强度,判断各待测样本的基因型。

1.3　统计分析　采用 SPSS 13.0 软件进行分析。应用拟合优度 χ^2 检验病例组和对照组基因型频数 Hardy-Weinberg 平衡的符合程度。基因与基因的交互作用采用非条件 logistic 回归模型进行分析。基因间交互作用分析使用 $OR_I = OR_{AB}/(OR_A \times O_R B)$ 分析, $OR_I = 1$,无交互作用; $OR_I > 1$,有正交互作用; $OR_I < 1$,有负交互作用[7]。

2　结　果

2.1　一般情况　300 例单相抑郁症患者中,男性 81 例(27.0%),女性 219 例(73.0%);年龄为 23 ~ 63 岁,平均年龄 42.7 岁,其中, 20 ~ 30 岁 55 例(18.3%), 31 ~ 40 岁 54 例(18.0%), 41 ~ 50 岁 71 例(23.7), > 50 岁 120 例(40.0%)。对照组中男性 85 人(28.3%),女性 215 例(71.7%);年龄 21 ~ 65,平均年龄 43.18,其中, 20 ~ 30 岁 84 人(28.0%), 31 ~ 40 岁 66 人(22.0%), 41 ~ 50 岁 41 人(13.7), > 50 岁 109 人(36.3.0%)。年龄(χ^2 = 1.562, P = 0.668)及性别(χ^2 = 0.133, P = 0.715)匹配 2 组差异无统计学意义。

2.2　遗传平衡检验　rs4570625 single nucleotide poly-morphism(SNP)位点各基因型频率在病例组与对照组分别进行群体代表性检验,结果显示,2 组均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律:病例组(χ^2 = 1.272, P = 0.259)、对照组(χ^2 = 0.014, P = 0.907)、研究对象总体(χ^2 = 2.565, P = 0.099)基因型分布频数比较,差异均无统计学意义(P > 0.05),表明 2 组均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。G1463A SNP 位点各基因型频率在病例组与对照组均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律:病例组(χ^2 = 2.861, P = 0.269)、对照组(χ^2 = 0.275, P = 0.790)、研究对象总体(χ^2 = 3.566, P = 0.149)基因型分布频数比较,差异均无统计学意义(P > 0.05)。

2.3　病例组与对照组 TPH-2 rs4570625、G1463A 基因型及等位基因频率比较(表 1)　rs4570625 基因型及等位基因频率在 2 组人群中分布差异无统计学意义,与单相抑郁症发病风险无关联;但 G1463A 基因型及等位基因频率在 2 组人群中分布差异均有统计学意义(均 P < 0.05)。G1463A AA 基因型是 GG 基因型发生单相抑郁症风险的 7.218 倍,但 rs4570625 基因多态性位点与单相抑郁症未见关联。

2.4　rs4570625 和 G1463A 基因-基因间交互作用对单相抑郁症的影响(表 2)　基因与基因交互作用的非条件 logistic 回归分析结果显示,rs4570625 TG 与 G1463A AG 有正交互作用(OR_{AB} = 5.539, OR_A = 0.747, OR_B = 0.024 OR_2 = 1)。

表 1　不同组别 rs4570625 与 G1463A 基因型及等位基因频率比较

基因	基因型和等位基因	病例组		对照组		χ^2 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
		例数	%	例数	%				
rs4570625	TT	88	29.3	88	29.3	3.361	0.263	1.000	
	TG	137	45.7	153	51.0			1.078	0.605 ~ 1.921
	GG	75	25.0	59	19.7			0.626	0.381 ~ 1.029
	T	313	52.2	329	54.8	2.367	0.124	1.000	
	G	287	47.8	271	45.2			1.113	0.661 ~ 1.860
G1463A	GG	18	6.0	172	57.3	199.655	0.000	1.000	
	AG	55	18.3	6	2.0			0.049	0.029 ~ 0.086
	AA	227	75.7	122	40.7			7.218	2.539 ~ 20.518
	G	91	15.2	350	58.3	98.535	0.000	1.000	
	A	509	84.8	250	41.7			7.831	2.627 ~ 20.876

表 2　基因与基因交互作用的非条件 logistic 回归分析

rs4570625	G1463A	*B*	$S_{\bar{x}}$	*Wald* χ^2 值	*P* 值	*OR* 值	95% *CI*
TT	GG					1.00	
TG	GG	−0.291	0.331	0.773	0.379	0.747	0.391 ~ 1.430
GG	GG	−0.454	0.279	2.651	0.103	0.635	0.368 ~ 1.097
TT	AG	−3.750	0.764	24.092	0.000	0.024	0.005 ~ 0.105
TG	AG	1.656	0.853	3.966	0.041	5.539	0.984 ~ 27.904
GG	AG	−0.492	1.058	0.216	0.642	0.611	0.077 ~ 4.865
TT	AA	20.256	16 408.712	0.000	0.999	0.000	
TG	AA	−18.146	16 408.712	0.000	0.999	0.000	
GG	AA	−18.514	16 408.712	0.000	0.999	0.000	

3　讨　论

TPH-2 是 5-HT 合成的限速酶，其基因异常会影响色氨酸羟化酶的功能，进而影响 5-HT 的合成，最终导致抑郁症的发生。rs4570625 与 G1463A 均是位于 TPH-2 基因启动子区的位点。研究表明，位于 TPH-2 启动子区的 rs4570625 能够使该基因启动子活性下降，导致 5-HT 在神经元细胞中表达下降。而启动子区 G1463A 的 A 等位基因多态性可以影响 TPH-2 的表达，使得 TPH-2 基因在神经元的转录活性降低 22%[8]。由于脑内 TPH2 酶活性较低，如果其基因在神经元转录活性降低一定会引起 5-HT 合成减少，导致抑郁症的发生。

国内外关于 rs4570625 基因多态性的研究主要集中在精神分裂症、自杀以及行为障碍方面，但其与抑郁症的研究甚少，仅 2004 年 Zill 等[9]抽取 300 例抑郁症患者、265 例健康者，检测 TPH-2 基因 10 个 SNPs，其中 rs1386494 位点与抑郁症相关，未发现 rs4570625 基因多态性与抑郁症相关，与本研究结果一致。但有研究表明，rs4570625 基因多态性与抑郁症的自杀行为有关[6]。Vanden Bogaert 等[10]对瑞士本部地区单双相抑郁障碍的研究表明，5′启动子区 G1463A 的基因多态性与单相抑郁症的发生有关[10]。Jollant 等[11]研究也表明 G1463A 基因与抑郁症的自杀行为倾向有关[11]。本研究与上述研究结果相似。

为进一步分析这 2 种基因在抑郁症发病中的作用，本研究在主效应分析的基础上，进一步探讨了 rs4570625 及 G1463A 基因多态性之间交互作用对单相抑郁症的影响，交互作用的结果显示，rs4570625 TG 与 G1463A AG 有明显的正交互作用，提示携带这 2 种基因型的人患单相抑郁症的可能性高，进一步说明单相抑郁症可能是基因-基因的交互作用共同作用的结果。

参考文献

[1] Leventhal AM. Sadness, depression, and avoidance behavior[J]. Behav Modif, 2008, 32(6): 759 – 779.

[2] Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030[J]. PLoS Med, 2006, 3(11): e442 – 451.

[3] aan het Rot M, Mathew SJ, Charney DS. Neurobiological mechanisms in major depressive disorder[J]. Canadian Medical Association Journal, 2009, 180(3): 305 – 313.

[4] 中华医学会精神科学会，南京医科大学脑科医院. 中国精神疾病分类方案与诊断标准[M]. 南京：东南大学出版社，1995：100 – 107.

[5] 汪向东，王希林，马弘. 心理卫生评定量表手册[M]. 增订版. 北京：中国心理卫生杂志社，1999：220 – 221.

[6] 王琳，杨艳杰，马劲松，等. TPH-2 基因多态性与单相抑郁及自杀行为关系[J]. 中国公共卫生，2012，28(7)：906 – 908.

[7] 高冀蓉，李洪权，李卓，等. 中国北方汉族人群 TNFα、VDR 基因间交互作用与 HBV 感染结局相关[J]. 基础医学与临床，2008，28(7)：729 – 733.

[8] Scheuch K, Lautenschlager M, Grohmann M, et al. Characterization of a functional promoter polymorphism of the human tryptophan hydroxylase 2 gene in serotonergic raphe neurons[J]. Biol Psychiatry, 2007, 62(11): 1288 – 1294.

[9] Zill P, Baghai TC, Zwanzger P, et al. SNP and haplotype analysis of a novel tryptophan hydroxylase isoform(TPH2) gene provide evidence for association with major depression[J]. Mol Psychiatry, 2004, 9(11): 1030 – 1036.

[10] Van Den Bogaert A, Sleegers K, De Zutter S, et al. Association of brain-specific tryptophan hydroxylase, TPH2, with unipolar and bipolar disorder in a Northern Swedish, isolated population[J]. Arch Gen Psychiatry, 2006, 63(10): 1103 – 1110.

[11] Jollant F, Buresi C, Guillaume S, et al. The influence of four serotonin-related genes on decision-making in suicide attempters[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2007, 144B(5): 615 – 624.

收稿日期：2013-02-16　　（郑新编辑　周欣琳校对）