

BDNF 基因 rs6265 多态性与首发精神分裂症患者伴发糖代谢异常的相关性研究

崔力军 潘 鑫 朱洁琳 孙晓雯

摘 要 **目的** 探讨脑源性神经营养因子(BDNF)基因 rs6265 多态性与首发精神分裂症发生糖代谢异常的关联性。**方法** 首发精神分裂症患者经 OGTT 试验区分为糖代谢异常者(研究组)与糖代谢正常者(对照组),分别收集 120 例,同时收集健康组 120 例。用高分辨率溶解曲线(HRM)对 BDNFrs6265 进行基因型检测,同时利用酶联免疫吸附技术测定血清 BDNF 水平。**结果** 研究组 AA 基因型、A 等位基因频率高于对照组($\chi^2 = 9.82, P = 0.00$; $\chi^2 = 4.70, P = 0.03$)及健康组($\chi^2 = 19.70, P = 0.00$; $\chi^2 = 8.16, P = 0.03$),差异有统计学意义。对照组与健康组的基因型及等位基因频率相比差异无统计学意义($\chi^2 = 1.12, P = 0.57$; $\chi^2 = 0.50, P = 0.48$)。血清 BDNF 水平在各组中依次为研究组 < 对照组 < 健康组($F = 40.09, P = 0.00$),3 组中 AA 基因型 BDNF 水平均低于 GG 型、GA 型($F = 634.55, P = 0.00, F = 337.62, P = 0.00, F = 106.78, P = 0.00$)。**结论** BDNF 基因 rs6265 多态性与首发精神分裂症伴发糖代谢异常有关,且 AA 基因型是影响患者 BDNF 表达的因素之一。

关键词 脑源性神经营养因子 精神分裂症 基因多态性

中图分类号 R74

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.07.021

Correlation Analysis of rs6265 Polymorphism of BDNF Gene with Abnormal Glucose Metabolism in Patients with First - episode Schizophrenia. Cui Lijun, Pan Xin, Zhu Jielin, et al. Clinical Laboratory, The First People's Hospital of Huzhou, Zhejiang 313000, China

Abstract **Objective** To explore the correlation between the rs6265 polymorphism of brain - derived neurotrophic factor (BDNF) gene and the abnormal glucose metabolism in first - episode schizophrenia. **Methods** Patients with first episode schizophrenia were divided into two groups after OGTT test: abnormal glucose metabolism (research group) and normal glucose metabolism (control group), 120 cases respectively, collect 120 cases of healthy group at the same time. The genotype of BDNFrs6265 was detected by high - resolution melting curve (HRM), and the serum BDNF level was measured by enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The frequency of AA genotype and A allele in research group were higher than that in control group ($\chi^2 = 9.82, P = 0.00$; $\chi^2 = 4.70, P = 0.03$) and healthy group ($\chi^2 = 19.70, P = 0.00$; $\chi^2 = 8.16, P = 0.03$), have significant differences. There was no significant difference in the genotype and allele frequencies between the control group and the healthy group ($\chi^2 = 1.12, P = 0.57$; $\chi^2 = 0.50, P = 0.48$). Serum BDNF levels in each group were shown to be: research group < control group < health group ($F = 40.09, P = 0.00$). The levels of BDNF in AA genotype were lower than those in GG type and GA type ($F = 634.55, P = 0.00, F = 337.62, P = 0.00, F = 106.78, P = 0.00$). **Conclusion** The rs6265 polymorphism of BDNF gene is related to the onset of schizophrenia with abnormal glucose metabolism, and AA genotype is one of the factors that affect the expression of BDNF in patients.

Key words Brain - derived neurotrophic factor; Schizophrenia; Gene polymorphism

精神分裂症患者容易发生糖代谢异常一直以来都是精神医学领域关注的热点问题。流行病学研究发现,首发精神分裂症患者出现 2 型糖尿病和糖耐量受损的概率是普通人群的 2~4 倍,且精神分裂症是独立危险因素^[1,2]。脑源性神经营养因子(BDNF)既参与了神经突触重塑,神经的生长、营养和修复,又参与了糖代谢^[3,4]。Lsmbert 等^[5]研究提示 BDNFrs6265

(Val66Met)多态性可能与精神分裂症发病机制有相关性,且血清 BDNF 含量降低是连接精神分裂症和 2 型糖尿病的发病因素。那么,首发精神分裂症患者并发糖代谢异常是否受到 BDNF 含量水平和基因型影响是值得深入研究的内容。

对象与方法

1. 对象:选择 2015 年 3 月~2016 年 9 月间首次发作的精神分裂症住院患者。入组标准:①符合 ICD-10 精神分裂症诊断;②年龄 16~45 岁,平均年龄 27.15 ± 3.50 岁;③患者病程不超过 60 个月;④未使用过抗精神病类药物;⑤ PANSS 量表得分 ≥ 60 。

基金项目:浙江省湖州市科技局基金资助项目(2104GYB31)

作者单位:313000 湖州市第三人民医院检验科(崔力军、朱洁琳、孙晓雯),精神科(潘鑫)

排除标准:①孕期或哺乳期妇女;②存在自身免疫性疾病或者1型糖尿病;③依从性差者。选择同期健康体检者120例作为健康组。本研究经笔者医院伦理委员会批准,所有患者或家属签署了知情同意书。

2. 口服葡萄糖耐量(OGTT)实验:所有符合入组标准对象空腹10h,于次日清晨6时用肝素抗凝管抽3ml静脉血,即刻口服含有75g无水葡萄糖的300ml温水,2h后再次抽取静脉血。每次标本采集后立即以3500r/min离心5min,采用葡萄糖氧化酶法检测检测血浆葡萄糖浓度(Abbott c16000生化分析仪)。按照2005年美国糖尿病协会(ADA)诊断标准:糖耐量异常(impaired glucose tolerance, IGT)为2h血糖浓度7.8~11.1mmol/L,空腹血糖受损(impaired fasting glucose, IFG)为空腹血糖浓度6~7.0mmol/L,糖尿病(diabetes mellitus, DM)空腹血糖高于7.0mmol/L和(或)2h血糖高于11.1mmol/L。将OGTT异常患者作为糖代谢异常组(研究组),正常者为对照组。

3. 血样采集:所有入组对象清晨6时抽取静脉血EDTA-K2管2ml,分离胶管3ml,前者立即放置于-70℃保存进行BDNF基因型检测,后者分离血清于EP管-70℃保存进行BDNF浓度测定,健康组标本处理方法同前。

4. 基因检测:按照试剂盒说明提取血液基因组DNA(微量离心柱法,天根公司)。使用Premier 5.0设计引物,由TaKaRa公司合成。BDNF基因rs6265G196A上游引物:5'-ACTCTGGAGAGCGT-GAATGGG-3',下游引物:5'-AGAAGAGGAGGCTC-CAAAGG-3'。PCR扩增和HRM(高分辨率熔解曲线)在Light Cycler 480 II荧光定量PCR仪(Roche公司)上完成检测。利用已知基因型参入法,通过Gene

Scanning Software分析HRM数据。同时选择不同基因型样本送上海英骏公司测序验证。

5. 浓度检测:采用人BDNF试剂盒(ELISA法,武汉博士德公司)按操作说明进行测定。用酶标仪读数测定每孔吸光度(A值)。用标准品浓度与A值计算出标准曲线,最后算出样本BDNF浓度。

6. 统计学方法:采用SPSS 16.0软件进行统计数据处理。采用拟合优度 χ^2 检验对不同基因型进行Hardy-Weinberg平衡检验;采用 χ^2 检验比较研究组与对照组、健康组基因型频率和等位基因频率;组间比较用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 入组患者OGTT结果分析:糖代谢异常组(研究组)收集患者120例,其中IGT 22例(18.3%),IFG 45例(37.5%),IGT + IFG 23例(19.2%),DM 30例(25.0%)。糖代谢正常组(对照组)收集患者120例,健康体检者(健康组)120例。

2. BDNFr6265多态性位点分析:基因组DNA经HRM方法(已知野生型参入法)检测后,分型结果见图1、图2,测序结果见图3。

3. Hardy-Weinberg平衡法则吻合度检验:两组基因型分布符合Hardy-Weinberg平衡定律($P > 0.05$),说明研究样本为随机样本,具有群代表性。

4. BDNFr6265在各组基因型频率和等位基因频率分布比较:研究组中AA基因型及A等位基因频率均高于对照组和健康组,对照组和健康组的基因型及等位基因频率差异均无统计学意义,具体分析见表1~表3。

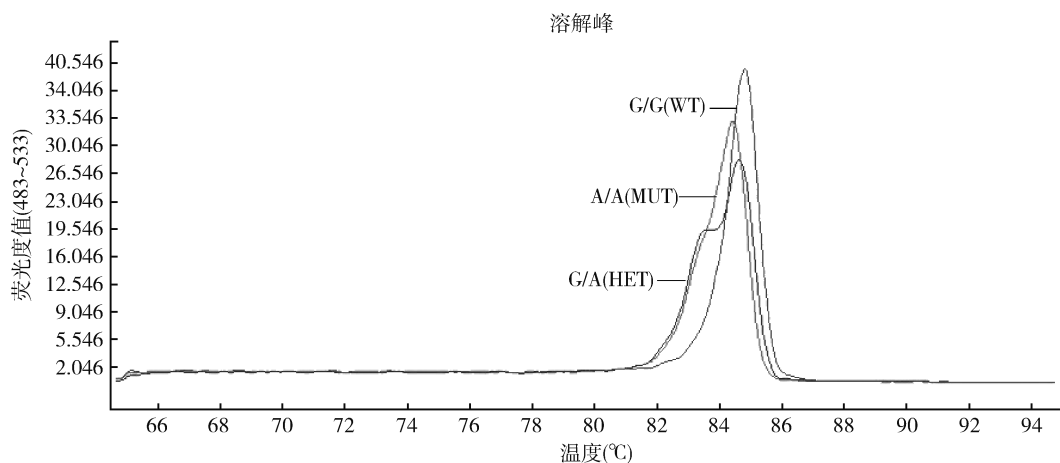


图1 BDNFr6265基因的HRM熔解峰分型图

蓝色单一峰代表BDNFr6265野生纯合型(GG),绿色单一峰代表突变纯合型(AA),红色双峰代表突变杂合型(GA)

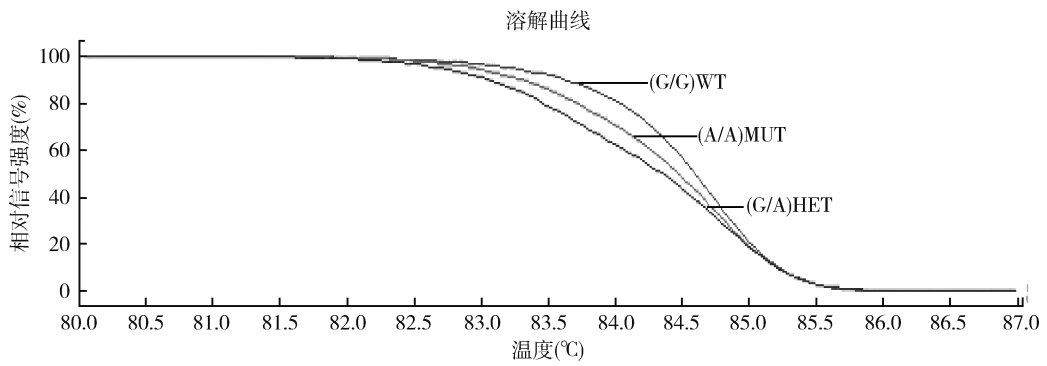


图 2 BDNFr6265 基因的 HRM 熔解曲线分型图
经过 Gene Scanning 软件计算后标准化的 BDNFr6265 基因熔解曲线图

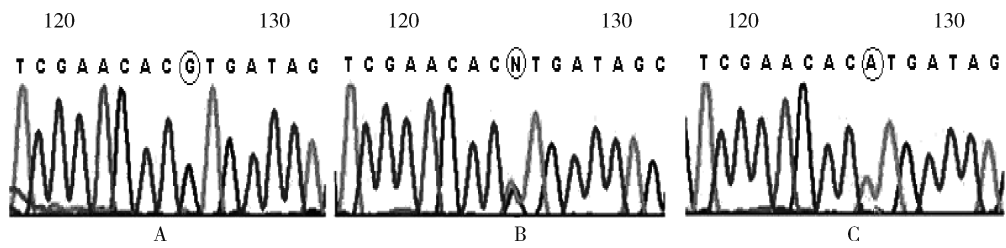


图 3 BDNFr6265 基因测序结果
A. 野生型 (GG); B. 杂合突变型 (GA); C. 纯和突变型 (AA); 测序结果与 HRM 分析样本符合率 100%

表 1 研究组与对照组 BDNFr6265 基因型、等位基因频率比较

组别	n	基因型 [n (%)]			χ^2	P	等位基因 (%)		χ^2	P
		GG	GA	AA			G	A		
研究组	120	11 (9)	57 (48)	52 (43)	9.82	0.00	33	67	4.70	0.03
对照组	120	28 (23)	60 (50)	32 (27)			48	52		

表 2 研究组与健康组 BDNFr6265 基因型、等位基因频率比较

组别	n	基因型 [n (%)]			χ^2	P	等位基因 (%)		χ^2	P
		GG	GA	AA			G	A		
研究组	120	11 (9)	57 (48)	52 (43)	19.7	0.00	33	67	8.16	0.00
健康组	120	35 (29)	57 (48)	28 (23)			53	47		

表 3 对照组与健康组 BDNFr6265 基因型、等位基因频率比较

组别	n	基因型 [n (%)]			χ^2	P	等位基因 (%)		χ^2	P
		GG	GA	AA			G	A		
研究组	120	28 (23)	60 (50)	32 (27)	1.12	0.57	48	52	0.5	0.48
健康组	120	35 (29)	57 (48)	28 (23)			53	47		

5. 血清 BDNF 表达水平在 3 组中的比较:血清 BDNF 水平比较依次为研究组 ($23.34 \pm 6.39\text{ng/ml}$) < 对照组 ($26.34 \pm 10.14\text{ng/ml}$) < 健康组 ($32.17 \pm 7.15\text{ng/ml}$), 差异有统计学意义 ($F = 40.09, P = 0.00$)。

6. BDNF 不同基因型在 3 组中的比较:具体分析结果见表 4。

讨 论

精神分裂症患者糖尿病发生率高。Zhang 等^[6]认为,多基因遗传病如精神分裂症和 2 型糖尿病之间存在某些相同的遗传基础,基因在其中起了关键作用。故本研究选择了首发精神分裂症患者作为入组研究对象,排除了患者服用抗精神病药物类型、剂量及用药时间等对糖代谢的影响。BDNF 是神经营养

表 4 BDNF 不同基因型在 3 组中的比较

组别	BDNF 基因型 (ng/ml)			F	P
	GG	GA	AA		
研究组	30.76 ± 7.88	21.79 ± 5.86	17.78 ± 1.33	634.55	0.00
对照组	33.68 ± 5.30	24.42 ± 5.68	20.41 ± 4.65	337.62	0.00
健康组	37.08 ± 3.79	25.24 ± 6.27	22.66 ± 6.65	106.78	0.00

因子家族中最重要的成员之一,对中枢神经系统功能的产生和维持发挥重要作用。精神分裂症患者 BDNF 多态性与其发生糖代谢异常的关系值得探讨。

本研究结果显示,首发精神分裂症伴糖代谢组(下称研究组)IGT 22 例(18.3%),首发且糖代谢正常组(下称对照组)0%,与张六平等^[7]报道精神分裂症患者中 IGT 发生率为 25% 有出入,这可能与研究对象是否服用抗精神药物有一定关系,非典型抗精神病药物氯氮平会导致患者发生 IGT^[8]。

通过 HRM 基因分型发现研究组与对照组及健康组 BDNF rs6265 基因型频率及等位基因分布频率存在显著差异,且 AA 基因型及 A 等位基因在研究组中的频率均高于对照组及健康组,这一结果与甄艳凤等^[9]关于精神分裂症与 2 型糖尿病共享基因研究中阐述的携带 A 等位基因是发生 2 型糖尿病的危险因素相吻合,提示了 A 等位基因是精神分裂症患者发生糖代谢异常的易感基因。同时发现 BDNFrs6265 多态性在对照组和健康组之间没有差异,这一点也证实了有些研究发现的 BDNFrs6265 多态性在精神分裂症和正常人群中没有关联,更多的联系可能在糖代谢方面^[10]。有关 BDNF 与糖代谢的关系已经在不同的试验中被证实,BDNF 可以减少胰高血糖素的产生,协助维持胰岛 β 细胞的正常组织结构,改善血糖调控,发生糖代谢异常与 BDNF 低水平表达有关联^[11,12]。

笔者的研究结果显示研究组患者 BDNF 水平较对照组有所下降,也证实了这一结论。通过对两组患者 BDNF 表达水平的分析结果中也得出 AA 基因型明显低于 GG、GA 型,Egan 等对 BDNF 多态性与其功能的研究中指出,AA 基因型携带者不能恰当的从高尔基体转运前体 BDNF 到分泌粒,导致 BDNF 活动依赖性分泌受损,从而影响 BDNF 功能。动物实验也发现 AA 基因型较 GG 野生型小鼠 BDNF 分析水平低 30%。结合上述观点论证,本研究推测携带了 A 等位基因的精神分裂症患者 BDNF 表达量下降,从而对糖代谢调控能力减弱,更容易发生糖代谢异常。另外大量研究表明,精神分裂症患者 A 等位基因位点突

变造成了 BDNF 分子结构改变,最终影响了记忆形成及神经元可塑性,患者容易出现阴性症状导致静坐生活方式的出现,增加患者 BMI 指数,引发糖代谢异常的发生。

综上所述,本研究支持了 BDNFrs6265 位点突变是首发精神分裂症患者伴发糖代谢异常的重要病因之一。同时精神分裂症及伴发的糖代谢异常都是多基因遗传疾病,下一步需要在多个基因位点方面需要进一步研究。

参考文献

- Haque N, Salma U, Nurunnabi TR, *et al.* Management of type 2 diabetes mellitus by lifestyle, diet and medicinal plants[J]. Pak J Biol Sci, 2011, 14(1): 13-24
- Tiwari AK, Zai CC, Müller DJ, *et al.* Genetics in schizophrenia: where are we and what next[J]. Dialogues Clin Neurosci, 2010, 12(3): 289-303
- Soliman F, Glatt E, Li XY, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor Val66Met allele impairs basal and ketamine-stimulated synaptogenesis in prefrontal cortex[J]. Science, 2010, 327(5967): 863-866
- Yamanaka M, Tsuchida A, Nakagawa T, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor enhances glucose utilization in peripheral tissues of diabetic mice[J]. Diabetes Obes Metab, 2007, 9(1): 59-64
- Lambert GW, Schlaich MP. Brain derived neurotrophic factor(BDNF) release from the human brain in patients with type 2 diabetes - possible influence of venous anatomy and comorbid depressive disorder[J]. Diabetologia, 2007, 50: 2027-2028
- Zhang XY, Liang J. Low BDNF is associated with cognitive impairment in chronic patients with schizophrenia[J]. Psychopharmacology, 2012, 222(2): 277-284
- 张六平, 李文杰, 易正辉, 等. 精神分裂症伴发 2 型糖尿病与色氨酸羟化酶基因多态性关联研究[J]. 临床精神医学杂志, 2010, 20(1): 4-6
- Sernyak MJ, Gulanski B. Undiagnosed hyperglycemia in clozapine-treated patients with schizophrenia[J]. Clin Psychiatry, 2003, 64: 605-608
- Zhen YF, Zhang J, Liu XY, *et al.* Low BDNF is associated with cognitive deficits in patients with type 2 diabetes[J]. Psychopharmacology: Berl, 2013, 227(1): 93-100
- Huang TL. Effects of antipsychotics on the BDNF in schizophrenia[J]. Curr Med Chem, 2013, 20: 345-350
- Cao L, Lin EJ, Cahill MC, *et al.* Molecular therapy of obesity and diabetes by a physiological autoregulatory approach[J]. Nat Med, 2009, 15(4): 447-454
- Condray R, Yao JK, Figueira ML, *et al.* Cognition, dopamine and bioactive lipids in schizophrenia[J]. Front Biosci, 2011, 3: 298-330

(收稿日期: 2016-11-16)

(修回日期: 2016-12-07)