

编者按: 2012年, 济宁医学院迎来了建校60华诞。为此, 本刊自第1期开辟“杰出校友学术论坛”专栏, 特邀有突出贡献的校友撰文, 以展现他们博学至善, 求索进取, 在医学研究领域取得的骄人成绩和丰硕成果, 作为献给学校60周年庆典的礼物, 以飨读者。

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2012.06.001

· 杰出校友医学学术论坛 ·

MTHFR 基因 C677T 多态性与精神分裂症患者发病年龄及抗精神病药疗效的关联研究*

张艳玲^{1,2,3} 张艳英⁴ 岳伟华^{1,2△}

(¹ 北京大学精神卫生研究所, 北京; ² 卫生部精神卫生学重点实验室, 北京 100191;

³ 北京航天总医院, 北京 100076; ⁴ 临沂市精神卫生中心, 山东 临沂 276000)



岳伟华, 1991级校友。北京大学精神卫生研究所(第六医院)研究员、博士研究生导师, 医学博士, 精神病与精神卫生学专业。学术兼职: 中国神经科学学会精神病学基础与临床分会青年委员会副主任委员、中华医学会精神病学分会青年委员、《中华精神科杂志》编委, 北京大学医学遗传学中心副主任。主要研究方向: 常见精神疾病的分子遗传学及神经生物学研究。2009年和2012年分别获得北京市科技新星计划和国家自然科学基金优秀青年科学基金资助。2004年以来陆续承担国家自然科学基金、国家高技术发展(863)计划专题项目、国家重点基础研究发展(973)计划子课题、“十二五”科技计划子课题等。已在SCI收录学术期刊发表学术论著30余篇, 包括 Nature Genetics, Sleep, American Journal of Medical Genetics 等杂志。

摘要 目的 探讨亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因 C677T 多态性与精神分裂症发病年龄及抗精神病药疗效的关联。**方法** 以首次出现精神症状作为精神分裂症患者发病年龄, 采用简明精神症状评定量表(Brief psychiatric rating scale, BPRS)减分率评估抗精神病药的疗效, 采用测序方法检测 MTHFR 基因 C677T 基因型。**结果** MTHFR 基因 C677T 多态性对精神分裂症发病年龄有显著性的影响(ANOVA, $P=0.039$), TT 基因型携带者的发病年龄较 CC 携带者的发病年龄小。进一步分析发现男性患者发病年龄早于女性(ANOVA, $P=0.004$), 且该基因多态性对发病年龄的影响主要体现在女性患者中(ANOVA, $P=0.013$; Plog rank=0.023)。MTHFR 基因 C677T 多态性与精神分裂症抗精神病药物疗效(BPRS 减分率)之间并无显著关联。**结论** MTHFR 基因 C677T 多态性与精神分裂症尤以女性患者的发病年龄显著关联, 可能是精神分裂症的高风险致病基因之一。

关键词 精神分裂症; MTHFR 基因; 发病年龄; 抗精神病药

中图分类号: R749.3 文献标志码: A 文章编号: 1000-9760(2012)12-382-05

* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(编号: 81071087), 北京市科技新星计划(编号: 2009A03)

△ [通信作者] 岳伟华, E-mail: dryue@bjmu.edu.cn

Association of MTHFR C677T polymorphism with age at onset of schizophrenia and therapeutic effects of antipsychotics

ZHANG Yan-ling, ZHANG Yan-ying, YUE Wei-hua

(Peking University Institute of Mental Health, Beijing 100191, China)

Abstract: Objective To explore the association of methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR)C677T polymorphism with the age at onset of schizophrenia or the therapeutic effects of antipsychotics. **Methods** We defined the age at onset of schizophrenia as the age of first episode of psychiatric symptoms according to participants' medical record. The main efficacy assessment was evaluated by brief psychiatric rating scale(BPRS). **Results** The MTHFR C677T polymorphism significantly affected age at onset of schizophrenia in a dose-dependent manner(ANOVA, $P=0.039$), the average onset of schizophrenia was earlier in subjects with TT genotype than subjects with CC genotype. The average onset of schizophrenia was later in women than men($P=0.004$). Further analysis demonstrate that C677T polymorphism affected age at onset of schizophrenia only in women($P=0.013$; Plog rank = 0.023). There was no significant association between MTHFR C677T polymorphism and BPRS reduced rate. **Conclusion** The MTHFR C677T polymorphism was associated with age at onset of schizophrenia but not with therapeutic effects of antipsychotics.

Key words: Schizophrenia; MTHFR; Age at onset; Antipsychotics

亚甲基四氢叶酸还原酶(Methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)基因位于人类染色体 1p36.3 区^[1], 既往研究表明染色体 1p36 区域与精神分裂症存在较强连锁^[2]。该基因全长约 20kb, 编码 656 个氨基酸的蛋白质, 包括 11 个外显子。MTHFR 基因编码生成的亚甲基四氢叶酸还原酶是叶酸代谢体系中一个重要酶体系, 在半胱氨酸代谢过程中发挥非常重要的作用, 可催化 N5, N10 亚甲基四氢叶酸还原成 N5 甲基四氢叶酸, 而后再将甲基转给同型半胱氨酸(hcy)使其生成甲硫氨酸(met)。研究发现 MTHFR 基因有多个多态性位点, 其中常见的是 C677T、A1298C 两种多态性。Frosst 等发现 MTHFR C677T 突变使氨基酸发生错译, 缬氨酸代替丙氨酸, 导致不耐热 MTHFR 活性下降^[3-4]。研究结果显示 TT 型突变对酶的活性影响最大, TT 型突变酶的活性在 37℃ 时为 CC 型酶活性的 40%~50%, 杂合子突变酶活性的下降程度居 CC 型与 TT 型之间^[5]。MTHFR 酶活性降低, 导致同型半胱氨酸复甲基化生成甲硫氨酸过程发生障碍, 引起高同型半胱氨酸血症, 进而诱发动脉粥样硬化、心肌梗死和新生儿出生缺陷等疾病的发生。

目前国内外对 MTHFR 基因 C677T 多态性与精神分裂症的关联研究结果存在较大分歧。部分研究表明 MTHFR C677T 是精神分裂症的风险位点^[6], 而也有部分研究不能验证这种关联^[7-8]。但所有 meta 分析结果均显示 MTHFR C677T 多

态性与精神分裂症显著关联^[9-13]。本研究前期采用两阶段研究设计, 在中国汉族人群中精神分裂症的全基因组关联研究, 第一阶段运用 Illumina HumanHap610 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)芯片, 对 746 例精神分裂症患者和 1599 例健康对照的 620901 个 SNPs 进行基因分型, 发现 MTHFR C677T 多态性与精神分裂症显著关联; 第二阶段运用 Sequenom 质谱分型技术, 在独立的 4027 例精神分裂症患者及 5630 例正常对照中进行独立验证, 进一步证实 MTHFR C677T 与精神分裂症的关联^[14]。

已有研究表明遗传因素对精神分裂症患者的发病年龄有着重要的影响^[15]。Vares 等^[16]于 2010 年采用生存分析的方法, 研究 MTHFR C677T 基因多态性与精神分裂症发病年龄之间的关系, 结果表明精神分裂症发病年龄与 677T 风险等位基因之间存在剂量依赖效应, 即携带 T 等位基因的个体比不携带 T 等位基因的个体患病年龄小, 且呈剂量依赖效应。本研究拟采用 DNA 测序检测方法, 结合临床病例资料分析 MTHFR C677T 多态性与精神分裂症发病年龄及临床疗效的关联。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

病例为 2003 年至 2011 年间累积收集的住院诊治的 1130 例汉族精神分裂症患者, 其中男性 558 例, 女性 572 例, 发病年龄(23.3 ± 6.8)岁。均

为偏执型精神分裂症,依据《美国精神障碍诊断与统计手册—第4版(DSM-IV)》精神分裂症的诊断标准,由两名以上精神科医师(其中至少1名是主治医师)独立诊断,诊断一致并排除其他精神科疾病。所有研究对象均无严重躯体疾病。

1130例精神分裂症患者中,306例接受单一抗精神病药治疗8周,其中,利培酮(2~6mg/d)181例、奥氮平(5~20mg/d)89例、喹硫平(400~750mg/d)36例。采用简明精神症状评定量表(Brief psychiatric rating scale, BPRS)评估精神分裂症患者的临床症状,并以BPRS减分率[(基线总分-疗后总分)/(基线总分-30)×100%]作为抗精神病药主要疗效的评价工具。参加BPRS量表评定的精神科医师于研究开始前接受培训,两医师评定一致性Kappa值>0.85,量表评定在患者入院后一周内完成。

所有研究对象均来自中国北方地区汉族人群,均于入组前详细了解本研究的目的和程序,由患者本人或其法定监护人签署知情同意书。本研究已获得北京大学第六医院伦理委员会的批准。

1.2 研究方法

所有受试者抽取外周静脉血5~10ml,置于抗凝管中,于4℃保存,1周内采用QIAGEN公司的全血提取试剂盒提取基因组DNA,并分装冻存待测。

25μl的PCR扩增反应体系:10mM Tris-HCl (pH 8.3),50mM氯化钾,1.5mM氯化镁,200μM dNTPs,0.4μM引物,30~50ng基因组DNA,1单位Taq DNA聚合酶。PCR扩增反应条件:94℃预变性5min,94℃变性30s,55~59℃退火30s,72℃延伸1min,共35个循环,最后72℃后延伸10min。取20μl的PCR产物经PE Biosystem公司生产的含AmpliTaq DNA聚合酶荧光标记测序试剂盒纯化,内引物扩增,进行循环测序反应,产物片段的分离在ABI PRISM 377-96 DNA自动测序仪(Applied Biosystem)上完成DNA测序。

1.3 统计学分析

采用社会科学统计分析软件包(Statistical Packages for Social Science 16.0, SPSS 16.0)进行一般临床资料与基因多态性的关联统计分析。采用ANOVA方差分析及生存分析(Kaplan-Meier survival curves)进行MTHFR C677T基因多态性与发病年龄的关联研究;采用独立样本t检验的方法进行MTHFR C677T基因多态性与BPRS减分率的关联研究。双侧P<0.05为有统计学显著

性。

2 结果

2.1 精神分裂症患者发病年龄的性别差异

本研究通过采集病史,共获得1130例精神分裂症患者的发病年龄信息,其中,男性患者558例,女性患者572例。考虑到性别因素在精神分裂症发病中的影响,将1130例精神分裂症患者按性别分为两组,并进行独立样本t检验,发现男性患者发病年龄早于女性(P=0.004)(见表1及图1A)。

表1 性别与精神分裂症发病年龄的关联研究

性别	n	发病年龄				t	P
		最小值	最大值	M	±SD		
男	558	12	45	22.7	6.6	2.86	0.004
女	572	11	50	23.8	7.0		

注:M代表均数,SD代表标准差。

2.2 MTHFR 基因 C677T 多态性与精神分裂症发病年龄的关联

并将1130例精神分裂症患者依据MTHFR基因C677T多态性的基因型分为CC、CT、TT三组,进一步比较不同基因型携带者的发病年龄有无差异。ANOVA方差分析结果显示,三组基因型携带者之间精神分裂症发病年龄差异有统计显著性(P=0.039)(见表2)。进一步进行Post Hoc检验,发现TT基因型携带者的发病年龄较CC携带者的发病年龄小(P=0.012)。

表2 MTHFR 基因 C677T 多态性与全部及不同性别组精神分裂症患者发病年龄的关联分析

基因型	n	发病年龄(周岁)				F	P
		最小值	最大值	M	±SD		
总样本	1130	11	50	23.3	6.8	3.256	0.039
CC	197	13	50	24.2	7.3		
CT	525	12	48	23.3	6.8		
TT	408	11	44	22.7	6.4		
男性样本	558	11	50	22.7	6.6	0.300	0.741
CC	100	13	45	22.9	6.9		
CT	260	12	45	22.8	6.8		
TT	198	13	42	22.4	6.1		
女性样本	572	11	49	23.8	7.0	4.350	0.013
CC	97	14	49	25.5	7.6		
CT	265	13	48	23.8	6.9		
TT	210	11	44	23.0	6.7		

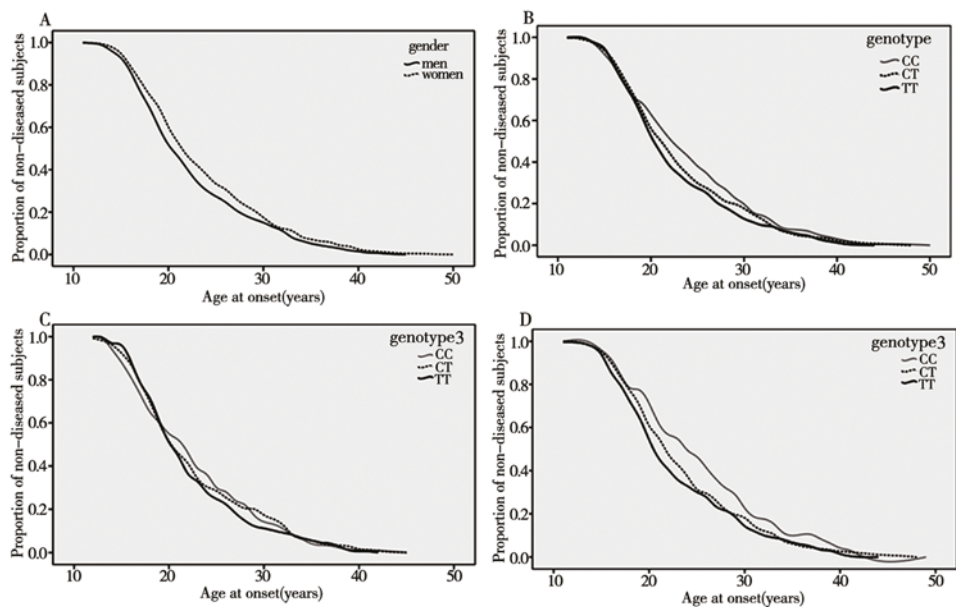
注:M代表均数,SD代表标准差。

为了更清晰的显示MTHFR基因C677T多态性对精神分裂症发病年龄的影响,我们采用生存分析的方法做了进一步的研究。结果如图1B所

示,18 岁之前三种基因型间发病情况无差异,即 T 风险等位基因在 18 岁之前对疾病的发病年龄没有影响或者影响很小。18 岁之后 T 风险等位基因对疾病发病年龄的影响呈现风险基因型剂量依赖效应。即携带 T 风险等位基因的患者发病要早于携带 C 等位基因的患者。

为此,我们分别在男性患者和女性患者中进一

步进行方差分析及生存分析。结果显示在男性精神分裂症患者中 MTHFR C677T 基因多态性与发病年龄并无显著关联 ($P=0.741$; Plog rank = 0.639)(见图 1C 及表 2),而在女性患者中该基因多态性则与发病年龄显著关联 ($P=0.013$; Plog rank=0.023)(见图 1D 及表 2)。



A. MTHFR 基因 C677T 多态性与精神分裂症发病年龄的生存分析(Plog rank =0.033)
B. 精神分裂症患者性别与发病年龄的生存分析(Plog rank =0.005)
C. 男性精神分裂症患者中 MTHFR 基因 C677T 多态性与发病年龄的生存分析(Plog rank =0.639)
D. 女性精神分裂症患者中 MTHFR 基因 C677T 多态性与发病年龄的生存分析(Plog rank =0.023)

图 1 MTHFR 基因 C677T 多态性与精神分裂症发病年龄的生存分析

2.3 MTHFR 基因 C677T 多态性与精神病药物疗效(BPRS 减分率)的关联

为了进一步探索 MTHFR 基因 C677T 多态性是否会对抗精神病药物的临床疗效产生影响,本研究结合临床资料(抗精神病药用药信息以及疗效评估 BPRS 量表评估等)做进一步的分析。研究结果表明 MTHFR C677T 基因多态性与精神分裂症抗精神病药物疗效(BPRS 减分率)之间并无显著关联(见表 3)。

表 3 MTHFR 基因 C677T 多态性与抗精神病药物疗效(BPRS 减分率)的关联

药物	基因型	n	BPRS 减分率	t	P
利培酮	CT+TT	147	38.4±12.7	0.019	0.985
	CC	34	38.3±10.2		
	总体	181			
奥氮平	CT+TT	77	36.5±12.42	0.543	0.589
	CC	12	32.6±11.88		
	总体	89			
喹硫平	CT+TT	26	36.5±12.5	0.177	0.861
	CC	10	38.1±13.1		
	总体	36			

3 讨论

本研究基于课题组前期精神分裂症 GWAS 的发现—MTHFR 基因 C677T 多态性与精神分裂症发病风险显著关联^[15],结合临床病例资料分析 MTHFR C677T 多态性与精神分裂症发病年龄的关联。结果发现 MTHFR C677T 三种基因型三组间精神分裂症发病年龄有显著性差异 ($P=0.039$),TT 基因型携带者的发病年龄较 CC 携带者的发病年龄小($P=0.012$)。进一步分析结果显示男性患者发病年龄早于女性($P=0.004$),而且发现该基因多态性对发病年龄的影响主要体现在女性患者中($P=0.013$; Plog rank=0.023),对男性患者的发病年龄并无明显影响。Vares 等^[16]采用生存分析的方法,研究 MTHFR C677T 基因多态性对精神分裂症发病年龄的影响,结果表明 677T 风险等位基因对精神分裂症发病年龄有显著

的影响,并且发病年龄与 677T 风险等位基因之间存在剂量依赖效应,即携带 T 等位基因的个体比不携带 T 等位基因的个体患病年龄小。本研究与上述 Vares 等的研究结果相似,同样发现了该风险等位基因对精神分裂症发病年龄有显著的影响,但本研究通过进一步分析发现该基因多态性对发病年龄的影响主要体现在女性患者中,对男性患者的发病年龄并无显著影响。提示在不同人群中均可能存在 MTHFR 基因多态性与精神分裂症发病年龄的关联,但可能受性别因素的影响。

另外本研究发现 MTHFR C677T 基因多态性与精神分裂症抗精神病药物疗效(BPRS 减分率)之间并无显著关联。我们认为可能是目前的样本量不够大,统计效能尚达不到要求,不足以发现该基因多态性与精神分裂症抗精神病药物疗效之间的关联,需要在较大的样本中重复该基因多态性与精神分裂症抗精神病药物疗效之间的遗传关联研究。

本研究提示 MTHFR C677T 多态性对精神分裂症发病年龄有显著影响,提示该基因多态性在精神分裂症的发病过程中发挥了重要的作用,但药物遗传研究仍需进一步深入探索。

参考文献:

- [1] Goyette P, Sumner JS, Milos R, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification[J]. *Nat Genet*, 1994, 7(2): 195-200.
- [2] Kohn Y, Danilovich E, Filon D, et al. Linkage disequilibrium in the DTNBP1 (dysbindin) gene region and on chromosome 1p36 among psychotic patients from a genetic isolate in Israel: findings from identity by descent haplotype sharing analysis[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2004, 128B(1): 65-70.
- [3] Dedoussis GV, Panagiotakos DB, Pitsavos C, et al. An association between the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation and inflammation markers related to cardiovascular disease[J]. *Int J Cardiol*, 2005, 100(3): 409-414.
- [4] Miriuka SG, Langman LJ, Evrovski J, et al. Genetic polymorphisms predisposing to hyperhomocysteinemia in cardiac transplant patients[J]. *Transpl Int*, 2005, 18(1): 29-35.
- [5] Markus HS, Ali N, Swaminathan R, et al. A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease [J]. *Stroke*, 1997, 28(9): 1739-1743.
- [6] Kunugi H, Fukuda R, Hattori M, et al. C677T polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase gene and psychoses [J]. *Mol Psychiatry*, 1998, 3(5): 435-437.
- [7] Philibert R, Gunter T, Hollenbeck N, et al. No association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism with schizophrenia [J]. *Psychiatr Genet*, 2006, 16(5): 221-223.
- [8] Yu L, Li T, Robertson Z, et al. No association between polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase gene and schizophrenia in both Chinese and Scottish populations [J]. *Mol Psychiatry*, 2004, 9(12): 1063-1065.
- [9] Allen NC, Bagade S, McQueen MB, et al. Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database [J]. *Nat Genet*, 2008, 40(7): 827-834.
- [10] Gilbody S, Lewis S, Lightfoot T. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genetic polymorphisms and psychiatric disorders: a HuGE review [J]. *Am J Epidemiol*, 2007, 165(1): 1-13.
- [11] Lewis SJ, Zammit S, Gunnell D, et al. A meta-analysis of the MTHFR C677T polymorphism and schizophrenia risk [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2005, 135B(1): 2-4.
- [12] Muntjewerff JW, Kahn RS, Blom HJ, et al. Homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase and risk of schizophrenia: a meta-analysis [J]. *Mol Psychiatry*, 2006, 11(2): 143-149.
- [13] Shi J, Gershon ES, Liu C. Genetic associations with schizophrenia: meta-analyses of 12 candidate genes [J]. *Schizophr Res*, 2008, 104(1-3): 96-107.
- [14] Yue WH, Wang HF, Sun LD, et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for schizophrenia in Han Chinese at 11p11.2 [J]. *Nat Genet*, 2011, 43(12): 1228-1231.
- [15] Hare E, Glahn DC, Dassori A, et al. Heritability of age of onset of psychosis in schizophrenia [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2010, 153B(1): 298-302.
- [16] Vares M, Saetre P, Deng H, et al. Association between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and age of onset in schizophrenia [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2010, 153B(2): 610-618.

(收稿日期 2012-12-05)