

GRIN2B 基因 rs1805247 多态性与精神分裂症 脑灰质体积及静息态低频振幅的关联研究

董 铮^{1,2,3#} 毕永霞^{4#} 卢天兰^{1,2} 岳伟华^{1,2△}

(¹ 北京大学第六医院暨精神卫生研究所, 北京 100191;

² 卫生部精神卫生学重点实验室暨国家精神心理疾病临床医学研究中心(北京大学), 北京 100191;

³ 赛诺菲(中国)投资有限公司上海分公司, 上海 200040; ⁴ 蓬莱市人民医院, 蓬莱 265600)

摘 要 **目的** 探讨离子型谷氨酸受体 2B (*GRIN2B*) 基因 rs1805247 多态性与精神分裂症脑灰质体积和静息态低频振幅(ALFF)的关联。**方法** 对 97 例精神分裂症患者和 99 名正常对照者进行 Siemens 3.0T MRI 扫描及 DNA 测序方法, 分析该多态性与脑灰质体积和静息态 ALFF 的关联以及基因-诊断交互效应对脑影像特征的影响。**结果** 73 例精神分裂症患者和 99 名对照者通过数据质控, 两组被试中 rs1805247 的 G 等位基因携带者均较 AA 携带者扣带回、额叶等灰质体积增加($P < 0.05$), 多重检验校正后仅对照组扣带回仍有意义($q < 0.05$); 患者组 G 等位基因携带者较 AA 携带者的海马旁回静息态 ALFF 活性增强($q < 0.05$); 大脑灰质体积的遗传主效应位于颞上回($q < 0.05$), 但诊断主效应及基因-诊断交互作用均不显著。**结论** *GRIN2B* 基因 rs1805247 多态性与精神分裂症脑灰质体积关联不显著, 而海马旁回、颞上回静息态 ALFF 活性异常。

关键词 精神分裂症; 单核苷酸多态性; 低频振幅; 交互作用

中图分类号: R749. C 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2017)10-329-05

The association of *GRIN2B* rs1805247 polymorphism with brain gray volume and amplitude of low-frequency fluctuation (ALFF) in schizophrenia

DONG Zheng^{1,2,3#}, BI Yongxia^{4#}, LU Tianlan^{1,2}, YUE Weihua^{1,2△}

(¹ Peking University Sixth Hospital & Institute of Mental Health; ² Key Laboratory of Mental Health, Ministry of Health & National Clinical Research Center for Mental Disorders (Peking University), Beijing 100191, China;

³ Sanofi Company, Shanghai 200040, China; ⁴ Penglai People's Hospital, Penglai 265600, China)

Abstract: Objective To explore the association of the *GRIN2B* rs1805247 polymorphism with the brain structure and function pathological mechanism in schizophrenia. **Methods** Ninety-seven schizophrenia patients (according to the diagnosis criteria of DSM-IV) and ninety-nine age and gender-matched healthy controls were recruited and examined using MRI scanning and DNA sequencing. **Results** After quality control, 73 schizophrenia patients and 99 healthy control subjects were enrolled the analyses. We found the volume increase of the cingulate gyrus, limbic lobe, frontal lobe in the G allele compared with the AA homozygous (uncorrected $P < 0.001$). Also, we found that the parahippocampal gyrus was greater activated than the AA homozygous (FDR corrected $q < 0.05$). Besides, we found that rs1805247 had the interaction effects with schizophrenia, and the main effects of rs1805247 was the volume decrease of the cingulate gyrus and the lower activation in superior temporal gyrus (FDR corrected $q < 0.05$). **Conclusion** These results contribute to the evidence that *GRIN2B* rs1805247 polymorphism may has an effect on resting ALFF in schizophrenia.

Keywords: Schizophrenia; SNPs; ALFF; Interactive effects

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

并列第一作者

精神分裂症是一种常见的多基因复杂疾病。其病因及发病机制至今尚未明确,目前对于精神分裂症谷氨酸假说的分子生物学研究主要涉及谷氨酸受体及相关酶、转运体、受体结合蛋白等基因多态性及 mRNA 表达研究。其中 N-甲基-D-天冬氨酸离子能谷氨酸受体 2B (glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 2B, *GRIN2B*) 参与精神分裂症及认知功能的重要作用不容忽视。

GRIN2B 基因位于染色体 12p12 区域,编码 NMDA 受体 2B 蛋白,是精神分裂症和双相情感障碍的易感基因之一^[1-4]。Jablensky 等发现 *GRIN2B* 基因的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与精神分裂症部分内表型如记忆功能损害、注意功能等关联^[5-6]。Arnold 等研究发现 *GRIN2B* 基因的单核苷酸位点多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) rs1805247 与儿童期强迫症患者大脑前额叶皮层、扣带回、眶额叶的灰质体积关联显著^[7];且独立成分分析发现 *GRIN2B* 基因多态性可能影响被试大脑结构和功能^[8]。

本研究拟采用病例对照设计,探究 rs1805247 位点多态性对于精神分裂症患者的大脑结构和静息态功能磁共振成像表型的作用,希望能够发现 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点多态性与精神分裂症影像学表型的关联证据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究纳入 97 例精神分裂症患者、99 例健康正常对照者,患者为住院或门诊患者,依据美国精神疾病诊断与统计手册第四版 (DSM-IV) 精神分裂症的诊断标准,由两名以上的精神科医师 (其中至少一名是主治医师) 独立诊断。正常对照者则通过社区公开招募入组,经非结构式临床访谈排除精神疾病,且家族中无精神疾病及自杀者,个体间无血缘关系。本研究获得了北京大学第六医院伦理委员会的审核批准,所有研究对象均详细了解并签署了知情同意书。

1.1.1 病例组 入组标准:18~45 岁,男女不限;汉族;右利手;采用精神障碍诊断与统计手册第 4 版 (DSM-IV) 结构式临床访谈 (SCID) 手册,符合轴 I 关于精神分裂症的临床诊断标准;患者本人及法定监护人签署知情同意书。排除标准:患有明确颅脑外伤或卒中史;或者有严重的躯体疾病;符合

DSM-IV 轴 I 诊断标准的分裂症情感性障碍、心境障碍、精神发育迟滞、阿尔茨海默病、物质滥用所致精神障碍等;磁共振扫描禁忌证。

1.1.2 正常对照组 入组标准:18~45 岁,男女不限;汉族;右利手。排除标准:明确躯体疾病病史;受试者或一级亲属符合 DSM-IV 轴 I 诊断标准的任何精神障碍;磁共振扫描禁忌证。

1.2 方法

1.2.1 遗传检测 采集被试外周静脉血约 5ml,置于 EDTA 抗凝管中;采用 Qiagen 全血基因组提取试剂盒提取 DNA, -80℃ 冰箱保存备用。

采用 DNA 测序方法进行基因分型检测。PCR 反应体系:DNA 模板 10ng,上下游引物 (10μM) 各 0.5μM, dNTP (10mM) 1mM, Taq 聚合酶 5U, 聚合酶缓冲液 (10) 10 倍稀释, ddH₂O 补足 25μl 反应体积。PCR 扩增反应条件:94℃ 预变性 5min, 94℃ 变性 30s, 58℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 1min, 共 35 个循环,最后 72℃ 后延伸 10min。取 20μl 的 PCR 产物经美国应用生物系统公司 Applied Biosystems (ABI) AmpliTaq DNA 聚合酶荧光标记测序试剂盒 (Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit) 纯化,内引物扩增,采用 ABI PRISM 377-96 DNA 测序仪检测,采用 Chromas 软件读取基因型。

1.2.2 脑影像学数据的采集 磁共振成像扫描在影像中心 Siemens Trio 3.0 T 磁共振成像扫描仪上完成。1) 高分辨率 3D T1 加权序列扫描参数:重复时间 (TR) = 2350ms, 回波时间 (TE) = 3.44ms, 翻转角 = 7°, 矩阵 = 256 × 256, 视野 = 220mm × 220mm, 层厚 = 1mm, 体素 = 1.0mm × 1.0mm × 1.5mm, 192 层。2) 静息状态下功能磁共振扫描参数:使用回波平面成像 (EPI) 序列采集功能相图像,重复时间 (TR) = 2s, 回波时间 (TE) = 30ms, 翻转角 = 90°, 矩阵 = 64 × 64, 视野 = 220mm × 220mm, 层厚/层间距 = 1mm/0.8mm, 体素 = 3.438mm × 3.438mm × 4.800mm, 33 层, 240 个时间点。

1.2.3 脑影像学数据分析 T1 序列图像的处理:所有被试 T1 序列的图像均在 Matlab 2012a 工具平台上运用 SPM8 工具包采用 VBM (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/vbm8/>) 提供的算法对全脑数据进行预处理。静息态扫描序列图像数据处理在 Matlab 2012a 工具平台上运用 DPARSF 和 REST 工具包进行处理。

精息态低频振幅 (amplitude of low-frequency fluctuation, ALFF) 值计算: 使用 DPARSF 工具计算出逐个体素在 0.01 ~ 0.1 Hz 的平均振幅值, 然后除以基于全脑平均的 ALFF 值即 mALFF 值, 最后获得每个体素的标准化的 ALFF 值。

1.3 统计学方法

采用独立样本 *t* 检验或 χ^2 检验分析组间一般资料差异。采用独立样本 *t* 检验分析组间的脑灰质体积和 ALFF 值差异, 并对结果进行假阳性发现率校正 (False Discovery Rate, FDR, corrected $P < 0.05$)。采用 SPM 8 软件全因素统计检验模型探索基因型与疾病风险间的交互作用, 同时纳入年龄和性别作为协变量, 进而对差异结果进行 FDR 校正。

2 结果

2.1 一般人口学资料

经过图像数据预处理, 排除头动幅度大于 3° 及基因型检测不成功的 24 例被试, 共 73 例病例、99 名正常对照进入分析。两组间一般资料差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 一般人口学资料比较

特征	病例组	对照组	t/χ^2	P
年龄	27.1 ± 6.8	25.8 ± 5.41	1.42	0.16
性别 (男/女)	41/32	52/46	0.16	0.69
教育年限	13.6 ± 3.0	13.6 ± 3.37	0.03	0.98
婚/否	57/16	70/29	0.97	0.33

2.2 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点与精神分裂症发病风险的关联分析

两组间 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点基因型频率与等位基因频率差异均无统计学意义, 提示该位点在本研究小样本中与精神分裂症无关联。见表 2。

表 2 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点与精神分裂症的关联分析

rs1805247	病例组	对照组	χ^2	P
基因型				
AA	50 (68.5)	67 (67.7)	0.02	0.99
GA	21 (28.8)	29 (29.3)		
GG	2 (2.7)	3 (3.0)		
等位基因				
A	121 (82.9)	163 (82.3)	0.02	0.89
G	25 (17.1)	35 (17.7)		

2.3 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点与脑灰质体积的关联分析

对照组 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点 G 等位基

因携带者较之 AA 纯合子携带者, 右侧扣带回、额叶、顶叶下回、中央旁小叶等区域灰质体积增加, FDR 校正后扣带回差异仍具显著性 ($q < 0.001$)。病例组患者 G 等位基因携带者较之 AA 纯合子携带者, 颞上回、额内侧回、前扣带、旁后带回、额上回及顶叶等区域灰质体积增加 ($P < 0.001$), 经 FDR 校正后差异不显著。全因素统计模型分析发现, rs1805247 位点多态性主效应位于顶叶下回及扣带回 ($P < 0.001$), 但 FDR 校正后不显著。基因型与疾病的交互效应体现在枕叶、楔叶、距状叶、扣带回和内侧额上回 ($P < 0.001$)。见图 1。

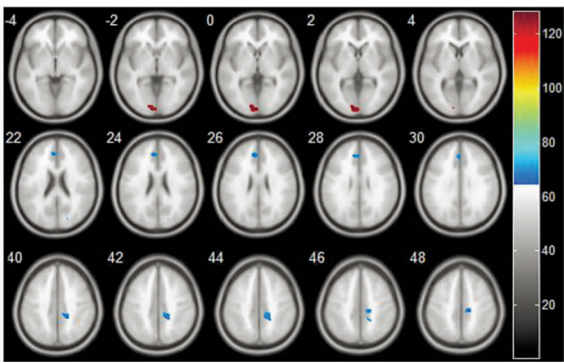


图 1 *GRIN2B* 基因 rs1805247 基因型与精神分裂症患病风险对脑灰质体积的交互作用

2.4 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点与静息态 ALFF 的关联分析

对照组 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点与静息态 ALFF 的关联分析无统计学意义 ($P > 0.05$)。病例组 *GRIN2B* rs1805247 位点 G 等位基因携带者较之 AA 纯合子携带者, 海马旁回、边缘叶的 ALFF 活性增强 ($P < 0.001$), FDR 校正后, 海马旁回活性减弱有显著性 ($q < 0.05$)。全因素统计模型分析发现, *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点对静息态 ALFF 值的主效应位于颞上回 ($P < 0.001$), FDR 校正后, 在颞上回的主效应仍有显著性 ($P < 0.05$) (图 2)。基因型与疾病的交互效用未有统计学意义。

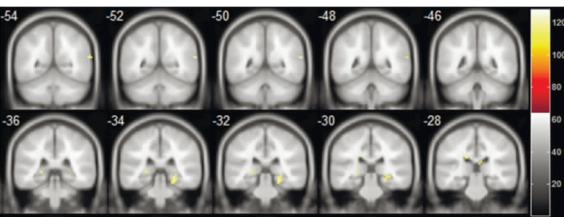


图 2 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点与静息态 ALFF 的关联 ($P < 0.05$)

3 讨论

精神分裂症是一种常见的复杂疾病,目前仍缺乏客观有效的生物学标记,影像遗传学研究有助于阐明其发病机制^[9]。本研究基于既往研究线索,探索 *GRIN2B* 基因 rs1805247 多态性位点与精神分裂症脑灰质结构及静息状态 ALFF 功能的关联。

结果显示,正常对照组中 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点 G 等位基因携带者扣带回、额叶、顶叶下回、中央旁小叶等脑区灰质体积增加;精神分裂症病例组中 G 等位基因携带者颞上回、额内侧回、前扣带和旁扣带回、额上回及顶叶等脑区灰质体积增加。*GRIN2B* 基因 rs1805247 位点的基因型主效应位于顶叶下回及扣带回 ($P < 0.001$);基因与疾病风险的交互作用位于枕叶、楔叶、距状叶、扣带回和内侧额上回 ($P < 0.001$)。

在静息态功能磁共振成像研究中,基于 ALFF 值^[1]的统计分析发现,精神分裂症患者 G 等位基因携带者海马旁回的激活增强;基因型主效应位于颞上回 ($P < 0.001$);但基因与疾病风险交互作用对 ALFF 的影响无统计学意义。

考虑到人脑的扣带回主要与情感的产生和社会行为有关^[10],*GRIN2B* rs1805247 位点可能参与调节精神分裂症还则扣带回体积降低的病理调节机制。海马旁回的主要功能包括参与记忆的编码和回忆相关的神经机制调节,精神分裂症患者 *GRIN2B* 基因 rs1805247 位点 G 等位基因携带者呈现静息状态海马旁回激活增加,在一定程度上揭示了精神分裂症患者认知功能异常的神经病理学基础;颞上回是杏仁核和前额叶皮层的通路中的重要结构,主要参与社会认知功能形成^[11],而精神分裂症患者颞上回活性降低,提示谷氨酸受体基因 *GRIN2B* 的 rs1805247 位点可能参与调节患者社会认知功能异常的病理机制。

总之,本研究采用影像遗传学研究技术发现,*GRIN2B* 基因 rs1805247 多态性与精神分裂症影像学异常显著关联,G 等位基因携带者大脑皮层如扣带回体积的增加和海马旁回功能激活增强。但样本量较小,仍需更大样本量的重复实验进行验证。

参考文献:

[1] Fallin MD, Lasseter VK, Avramopoulos D, et al. Bipolar I disorder and schizophrenia: a 440-single-nucleotide

polymorphism screen of 64 candidate genes among Ashkenazi Jewish case-parent trios [J]. Am J Hum Genet, 2005, 77(6): 918-936. DOI: 10.1086/497703.

- [2] Guo Z, Niu W, Bi Y, et al. A study of single nucleotide polymorphisms of *GRIN2B* in schizophrenia from Chinese Han population [J]. Neurosci Lett, 2016, 630: 132-135. DOI: 10.1016/j.neulet.2016.07.038.
- [3] Zhao Q, Che R, Zhang Z, et al. Positive association between *GRIN2B* gene and bipolar disorder in the Chinese Han Population [J]. Psychiatry Res, 2011, 185(1-2): 290-292. DOI: 10.1016/j.psychres.2009.11.026.
- [4] Qin S, Zhao X, Pan Y, et al. An association study of the N-methyl-D-aspartate receptor NR1 subunit gene (*GRIN1*) and NR2B subunit gene (*GRIN2B*) in schizophrenia with universal DNA microarray [J]. Eur J Hum Genet, 2005, 13(7): 807-814. DOI: 10.1038/sj.ejhg.5201418.
- [5] Jablensky A, Morar B, Wiltshire S, et al. Polymorphisms associated with normal memory variation also affect memory impairment in schizophrenia [J]. Genes Brain Behav, 2011, 10(4): 410-417. DOI: 10.1111/j.1601-183X.2011.00679.x.
- [6] Greenwood TA, Lazzaroni LC, Calkins ME, et al. Genetic assessment of additional endophenotypes from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia Family Study [J]. Schizophr Res, 2016, 170(1): 30-40. DOI: 10.1016/j.schres.2015.11.008.
- [7] Arnold PD, Macmaster FP, Hanna GL, et al. Glutamate system genes associated with ventral prefrontal and thalamic volume in pediatric obsessive-compulsive disorder [J]. Brain Imaging Behav, 2009, 3(1): 64-76. DOI: 10.1007/s11682-008-9050-3.
- [8] Vergara VM, Ulloa A, Calhoun VD, et al. A three-way parallel ICA approach to analyze links among genetics, brain structure and brain function [J]. Neuroimage, 2014, 98: 386-394. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2014.04.060.
- [9] Erk S, Mohnke S, Ripke S, et al. Functional neuroimaging effects of recently discovered genetic risk loci for schizophrenia and polygenic risk profile in five RDoC subdomains [J]. Transl Psychiatry, 2017, 7(1): e997. DOI: 10.1038/tp.2016.272.
- [10] Hadland KA, Rushworth MF, Gaffan D, et al. The effect of cingulate lesions on social behaviour and emotion [J]. Neuropsychologia, 2003, 41(8): 919-931. DOI: 10.1016/s0028-3932(02)00325-1.

(下转第 337 页)

- 2009, 35 (1) : 136-152. DOI: 10. 1093/schbul/sbn153.
- [2] Carter CS, Minzenberg M, West R, et al. CNTRICS imaging biomarker selections: Executive control paradigms [J]. Schizophr Bull, 2012, 38 (1) : 34-42. DOI: 10. 1093/schbul/sbr114.
- [3] Henderson D, Poppe AB, Barch DM, et al. Optimization of a goal maintenance task for use in clinical applications [J]. Schizophr Bull, 2012, 38 (1) : 104-113. DOI: 10. 1093/schbul/sbr172.
- [4] 岳玲, 唐莺莹, 元清, 等. 神经性厌食患者反应抑制功能事件相关电位的研究 [J]. 临床精神医学杂志, 2016, 26 (3) : 151-154.
- [5] Bekker EM, Kenemans JL, Verbaten MN. Electrophysiological correlates of attention, inhibition, sensitivity and bias in a continuous performance task [J]. Clin Neurophysiol, 2004, 115 (9) : 2001-2013. DOI: 10. 1016/j. clinph. 2004. 04. 008.
- [6] Smith JL, Johnstone SJ, Barry RJ. Effects of pre-stimulus processing on subsequent events in a warned Go/NoGo paradigm: response preparation, execution and inhibition [J]. Int J Psychophysiol, 2006, 61 (2) : 121-133. DOI: 10. 1016/j. ijpsycho. 2005. 07. 013.
- [7] Hogan M, Kiefer M, Kubesch S, et al. The interactive effects of physical fitness and acute aerobic exercise on electrophysiological coherence and cognitive performance in adolescents [J]. Exp Brain Res, 2013, 229 (1) : 85-96. DOI: 10. 1007/s00221-013-3595-0.
- [8] Donkers FC, van Boxtel GJ. The N2 in go/no-go tasks reflects conflict monitoring not response inhibition [J]. Brain Cogn, 2004, 56 (2) : 165-176. DOI: 10. 1016/j. bandc. 2004. 04. 005.
- [9] 陈安涛, 宋爽. 酒精对认知控制方式的影响 [J]. 辽宁师范大学学报 (社会科学版), 2016, 39 (2) : 45-52. DOI: 10. 16216/j. cnki. 1sxbwk. 201602045.
- [10] Falkenstein M, Hoormann J, Hohnsbein J. ERP components in Go/Nogo tasks and their relation to inhibition [J]. Acta Psychol (Amst), 1999, 101 (2-3) : 267-291. DOI: 10. 1016/s0001-6918(99)00008-6.
- [11] Zhang Z, Chen X, Yu P, et al. Evidence for the contribution of NOS1 gene polymorphism (rs3782206) to prefrontal function in schizophrenia patients and healthy controls [J]. Neuropsychopharmacology, 2015, 40 (6) : 1383-1394. DOI: 10. 1038/npp. 2014. 323.
- [12] Kopf J, Schecklmann M, Hahn T, et al. NOS1 ex1f-VN-TR polymorphism influences prefrontal brain oxygenation during a working memory task [J]. Neuroimage, 2011, 57 (4) : 1617-1623. DOI: 10. 1016/j. neuroimage. 2011. 05. 034.
- [13] Fan J, Flombaum JI, McCandliss BD, et al. Cognitive and brain consequences of conflict [J]. Neuroimage, 2003, 18 (1) : 42-57. DOI: 10. 1006/nimg. 2002. 1319.
- [14] Kopf J, Schecklmann M, Hahn T, et al. NOS1 ex1f-VN-TR polymorphism affects prefrontal oxygenation during response inhibition tasks [J]. Hum Brain Mapp, 2012, 33 (11) : 2561-2571. DOI: 10. 1002/hbm. 21382.
- (收稿日期 2017-07-11)
(本文编辑:甘慧敏)

(上接第 332 页)

87565640701190841.

- [11] Bigler ED, Mortensen S, Neeley ES, et al. Superior temporal gyrus, language function, and autism [J]. Dev Neuropsychol, 2007, 31 (2) : 217-238. DOI: 10. 1080/

(收稿日期 2017-06-25)

(本文编辑:甘慧敏)

• 简讯 •

《济宁医学院学报》期刊影响力指数再一次提升

十二五期间,《济宁医学院学报》的影响因子连续 5 年不断攀升。2016 年——十三五规划的开局之年,中国学术期刊影响因子年报统计数据显示:《济宁医学院学报》期刊影响力指数(CI 值)达 158.75,超过了 2015 年的 145.92,该指标在山东省同类医学院校中名列前茅。

本刊编辑部