

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.13.002

miR-137 基因多态性与中国南方人群精神分裂症的关联性研究*

罗旭东¹,符家武²,梁爱萍³,殷静雯^{1△}

(广东医科大学附属第一医院:1.精神心理科;2.神经内科;3.血液透析中心,广东湛江 524001)

[摘要] **目的** 采用中国南方汉族人群样本对 miR-137 基因多态性与精神分裂症的相关性进行研究。**方法** 收集 944 例精神分裂症患者(精神分裂症组)及 938 例健康对照者(对照组)外周血液,采用 SnaPshot 技术对 rs1625579 位点进行基因分型,比较该位点等位基因频率分布在精神分裂症组和对照组,以及在精神分裂症患者临床变量分组中的差异。**结果** 在精神分裂症组和对照组中基因型分布差异有统计学意义($\chi^2 = 4.426, P = 0.035$),等位基因分布差异有统计学意义($\chi^2 = 4.813, P = 0.028$)。按性别分组后,女性精神分裂症患者和对照组之间基因型分布差异有统计学意义($\chi^2 = 3.928, P = 0.047$),等位基因分布差异有统计学意义($\chi^2 = 3.957, P = 0.047$)。**结论** 研究结果证实了 miR-137 基因多态性与精神分裂症的相关性,同时发现了 miR-137 在精神分裂症发病调控过程中的性别特异性。

[关键词] 多态现象,遗传;基因;精神分裂症;miR-137;rs1625579 多态性;汉族

[中图分类号] R749.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)13-1733-03

Association of miRNA-137 polymorphism with schizophrenia in a southern Chinese Han population*

Luo Xudong¹, Fu Jiawu², Liang Aiping³, Yin Jingwen^{1△}

(1. Department of Psychiatry; 2. Department of Neurology; 3. Department of Hemodialysis, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 524001, China)

[Abstract] **Objective** To assay the association between miR-137 gene polymorphism and schizophrenia in a southern Chinese Han population. **Methods** We genotyped 944 schizophrenic patients and 938 controls for the risk single nucleotide polymorphism (SNP) rs1625579 by the SnaPshot technique and compared the clinical profiles and neurocognitive functions of different genotypes. **Results** Both the genotype and allele distributions of the rs1625579 SNP were significantly different between patients and controls ($\chi^2 = 4.426, P = 0.035$; $\chi^2 = 4.813, P = 0.028$). Gender-stratified analysis revealed the significant difference in genotype and allele distributions in female patients ($\chi^2 = 3.928, P = 0.047$; $\chi^2 = 3.957, P = 0.047$). **Conclusion** The results of our study verifies that miR-137 gene polymorphism is associated with schizophrenia. It is discovered that miR-137 has the gender specificity in the regulation process of schizophrenia pathogenesis.

[Key words] polymorphism, genetic; genes; schizophrenia; miR-137; rs1625579 polymorphism; Han nationality

精神分裂症是由多基因参与的多表型疾病^[1],是由易感基因失调的“积累”而导致的神经系统功能障碍^[2]。在神经系统中,miRNA 通过级联效应调控多个神经发育信号通路和多个靶基因的表达进而精细地调节胚胎期及成年期的神经发生、突触发育、树突蛋白的合成、轴突导向和神经元塑形等过程。miRNA 表达失调会引起神经结构和功能异常^[3-5],导致精神分裂症异常表型的产生^[6]。近年来 miR-137 与精神分裂症的关系成为研究热点,miR-137 调控的靶基因参与大脑结构发育和功能成熟的各个环节,包括对神经细胞的增殖、分化、成熟,突触可塑性及神经细胞间信号传递^[7-10]。同时其多个靶基因已被证实与精神分裂症相关,包括 T 细胞因子 4(T cell factor-4, TCF-4)^[11]、L 型钙通道 $\alpha 1C$ 亚基(calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit, CACNA1C)^[12-14]、锌指蛋白 804A(zinc finger protein 804A, ZNF804A)^[15]、CSMD1(CUB and sushi multiple domains 1)和 C10orf26(homo sapiens chromosome 10 open reading frame 26)^[11]等。因此,miR-137 可能作为精神分裂症基因调控网络的核心因子,在精神分裂症的发病过程中起着重要的作用。

miR-137 基因位于 1 号染色体 1p22,存在多个单核苷酸多

态性位点。其中,rs1625579 在全基因组关联性研究(GWAS)被发现是与精神分裂症关联性最强的位点^[16]。但是在随后的研究中,该位点与精神分裂症的关系研究出现不一致的结果,在部分欧洲的人群样本中未显示出差异^[17-19]。而在中国人群样本中,前期研究发现该位点与精神分裂症存在关联性^[20]。但由于在不同种族人群中等位基因频率的差异易导致研究结果的异质性,特别是 rs1625579 位点等位基因 G 频率较低。为了保证统计效力,本研究进一步扩大样本量,在中国南方人群中验证 rs1625579 与精神分裂症的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 精神分裂症组血液样本采自 2013 年 9 月至 2014 年 11 月本院精神心理科、解放军第 422 医院、深圳市南山区慢性病防治院 944 例。其中男 603 例,女 341 例,平均年龄(35.37 ± 13.79)岁。纳入标准:(1)符合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,采取结构化临床访谈(structured clinical interview for DSM-IV, SCID),由两名主治医师以上精神科医师共同完成;(2)生物学父母均为汉族;(3)发病年龄 18~55 岁。排除标准:(1)符合 DSM-IV 诊断标准的分裂情感障碍、心境障碍、精神发育迟滞、

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(31171219)。 作者简介:罗旭东(1980—),主治医师,硕士,主要从事精神分裂症的临床与基础研究。 △ 通讯作者,E-mail:amysays@live.com。

谵妄、痴呆等其他精神障碍；(2)物质滥用所致精神障碍；(3)患有严重的不稳定躯体疾病；(4)妊娠或哺乳期妇女。对照组血液样本采用本院体检中心同期体检者 938 例。其中男 565 例，女 373 例，平均年龄(36.29±12.55)岁。纳入标准：(1)身体健康；(2)个体间无血缘关系；(3)生物学父母为汉族。排除标准：(1)有精神疾病史或精神疾病家族史及家族性遗传病史；(2)患有严重躯体和神经系统疾病、长期物质滥用史；(3)妊娠或哺乳期妇女。精神分裂症组和对照组的年龄和性别分布差异无统计学意义($P>0.05$)。所有病例签署知情同意书，本研究已通过本院伦理委员会审查。

1.2 方法

1.2.1 血液样本采集 在患者知情同意后，抽取外周静脉血 2 mL，乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝，-20℃保存备基因组 DNA 提取。

1.2.2 基因组 DNA 提取 应用 TIANamp Blood DNA Kit (天根生化科技有限公司，中国)提取基因组 DNA。应用紫外分光光度计检测基因组 DNA 的浓度。

1.2.3 基因分型 SNaPshot SNP 分型技术进行 rs1625579 位点分型。引物设计采用在线 Primer3 软件。rs1625579F:5'-TTT AGT CAA CAT TTG CAT TTG GAA GC-3'; rs1625579R:5'-CAA CAG ATT CCA AAG GTC TCT AGT GTG C-3'。PCR 反应体系(20 μL)包含 1×GC Buffer I, 3.0 mmol/L Mg²⁺, 0.3 mmol/L 脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP), 1 U HotStarTaq 聚合酶(Qiagen Inc., 德国), 1 μL 样本 DNA 和 2 μL PCR 引物。PCR 循环程序:95℃ 2 min; 11 cycles×[94℃ 20 s, (65℃±0.5℃)/cycle 40 s, 72℃ 90 s]; 24 cycles×[94℃ 20 s, 59℃ 30 s, 72℃ 90 s]; 72℃ 2 min。PCR 产物经虾碱酶和外切酶 I 纯化后，用 SNaPshot Multiplex kit (Applied Biosystems Co., Ltd., 美国)进行延伸反应。延伸引物序列为 5'-TTT TTT

TTT TTT TTT TTT TTT AAA CAA GGG AAA TGT TAA TCA CAA TTA-3'。延伸产物用虾碱酶纯化，在 ABI3130xl (Applied Biosystems Co., Ltd., 美国)上样。用 Gene Mapper4.1 (Applied Biosystems Co., Ltd., 美国)进行 SNP 分型。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件分析，计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示，组间比较采用 t 检验；计数资料用率表示，组间采用 χ^2 检验。并进行哈迪-温伯格平衡(HWE)检测。应用相对危险度(OR)及 95%CI 计算和评估相对风险。采用 QUANTO 1.2 软件进行统计检验力计算，检验水准 $\alpha=0.05$ ，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

miR-137 多态位点 rs1625579 在精神分裂症组和对照组中基因型和等位基因频率的分布见表 1。两组分布均符合哈迪温伯格平衡定律，在总体样本中 TT、GT、GG 基因型分布分别为 1 655(87.94%)，216(11.48%)，11(0.58%)；在精神分裂症组中 TT、GT、GG 基因型分别为 845(89.51%)，95(10.06%)，4(0.42%)；对照组中 TT、GT、GG 基因型分别为 810(86.35%)，121(12.90%)，7(0.75%)。由于等位基因 G 频率较低，因此合并 GG 和 GT 组与 TT 进行比较。结果显示，在精神分裂症组和对照组中基因型分布差异有统计学意义($\chi^2=4.426, P=0.035$)，等位基因分布差异有统计学意义($\chi^2=4.813, P=0.028$)。按性别分组后，女性精神分裂症患者和对照组之间基因型分布差异有统计学意义($\chi^2=3.928, P=0.047$)，等位基因分布差异有统计学意义($\chi^2=3.957, P=0.047$)。在男性精神分裂症患者和对照组中，基因型分布与等位基因分布差异无统计学意义($P>0.05$)。对精神分裂症的临床变量与 rs1625579 的基因型间的差异进行统计，结果显示，TT 基因型患者和 G 等位基因携带患者年龄、发病年龄、家族史等临床变量差异无统计学意义($P>0.05$)，见表 2。

表 1 miR-137 基因 rs1625579 多态性在精神分裂症组和对照组的基因型及等位基因频率分布

项目	n	基因型[n(%)]		χ^2	P	等位基因[n(%)]		χ^2	P	HWE		OR	95%CI
		TT	GT+GG			T	G			χ^2	P		
总体				4.426	0.035			4.813	0.028			1.344	1.031~1.751
精神分裂症组	944	845(89.51)	99(10.49)			1 785(94.54)	103(5.46)			0.564	0.453		
对照组	938	810(86.35)	128(13.65)			1 741(92.80)	135(7.20)			1.097	0.295		
男				1.477	0.224			1.774	0.183			1.246	0.901~1.724
精神分裂症组	603	533(88.39)	67(11.61)			1 133(93.95)	73(6.05)			0.321	0.571		
对照组	565	486(86.02)	74(13.98)			1 046(92.57)	84(7.43)			1.318	0.251		
女				3.928	0.047			3.957	0.047			1.595	1.003~2.535
精神分裂症组	341	312(91.50)	29(8.50)			652(95.60)	30(4.40)			0.192	0.661		
对照组	373	324(86.86)	49(13.14)			695(93.16)	51(6.84)			0.044	0.835		

表 2 miR-137 基因 rs1625579 多态性与精神分裂症患者临床变量的关联性分析

变量	样本量 (TT/GT+GG)	基因型		χ^2/t	P
		TT	GT+GG		
年龄($\bar{x}\pm s$, 岁)	845/99	35.10±13.74	37.66±14.07	1.715	0.089
发病年龄($\bar{x}\pm s$, 岁)	829/99	25.10±9.10	26.06±10.18	0.902	0.367

续表 2 miR-137 基因 rs1625579 多态性与精神分裂症患者临床变量的关联性分析

变量	样本量 (TT/GT+GG)	基因型		χ^2/t	P
		TT	GT+GG		
男	523/70	24.33±9.28	24.43±8.52	0.088	0.930
女	306/29	26.42±11.01	30.00±12.70	1.649	0.100
家族史[n(%)]					
男	138	126(91.30)	12(8.70)	0.553	0.457
女	806	719(89.21)	87(10.79)		

3 讨 论

为了验证 miR-137 基因多态位点 rs1625579 与中国南方人群精神分裂症发病的关联性,采用 944 例精神分裂症患者和 938 例健康人群的样本进行病例对照研究。结果显示,在精神分裂症组和对照组中基因型分布、等位基因分布差异均有统计学意义($P < 0.05$)。这一结果与 GWAS 研究结果一致^[16]。本研究发现,rs1625579 的基因型分布在不同的种族中差异较大,例如在美国和加拿大人群中,G 等位基因的频率为精神分裂症组 17.65%,对照组 20.66%^[21];在澳大利亚人群中为精神分裂症组 19.45%,对照组 20.88%^[19],苏格兰人群中为精神分裂症组 26.85%,对照组 20.37%^[17-18]。而在本研究所收集的中国南方人群的样本中 G 等位基因频率较低,为精神分裂症组 5.46%,对照组 7.20%。rs1625579 的基因型分布表现出种族的异质性。即便在同一种族中,rs1625579 的基因型分布也具有差异,在 Guan 等^[22]采用的中国西安人群样本中,G 等位基因的频率为精神分裂症组 11.9%,对照组 14.2%。在国际人类基因组单体型图计划的数据中,中国北京人群 rs1625579 多态位点 G 等位基因频率为 8.5%。因此,miR-137 的基因型分布不仅表现出种族差异,同样可能具有地域差异。基因频率分布的差异易增大了基因多态研究的异质性,对于 miR-137 多态性与精神分裂症的相关性有必要在多种族及多人群中进行验证。本研究进一步证实了 miR-137 多态性与中国南方人群精神分裂症的相关性,为 miR-137 与精神分裂症的相关性研究提供了进一步的数据支持。

该研究首次发现了,在女性人群中,精神分裂症组和对照组基因型分布、等位基因分布差异有统计学意义($P < 0.05$)。而在男性人群中差异不显著。女性样本为 341 例,对照组 373 例,设定显著性水平为 0.05,OR 为 2.0,样本的统计检验力为 0.966。而在前期的研究中 rs1625579 的基因型与等位基因的频率分布在不同性别中并未表现出差异^[20],其中,精神分裂症组样本量为 611 例,健康对照为 628 例。结果不一致的原因可能由于性别分组后样本量减少(女性精神分裂症组 214 例,对照组 211 例),统计效力降低所致。根据临床研究的结果,精神分裂症在症状表现和发病年龄上存在性别差异,女性患者以幻觉和妄想较男性更多,男性表现出的社交退缩更为严重。男性好发年龄在 18~25 岁,女性则高发于 30 岁前后,造成差异的原因可能与雌激素的作用有关^[23]。miR-137 的靶基因 ZNF804A 的基因多态性同样在女性人群中具有显著差异^[24],然而 miR-137 是否通过对 ZNF804A 靶基因的调控导致其对精神分裂症调控的性别特异性,还有待进一步的研究。

研究结果进一步证实了 miR-137 基因多态性与精神分裂症的相关性,同时发现了 miR-137 在精神分裂症发病调控过程中的性别特异性。但是 rs1625579 如何影响 miR-137 的转录

及表达及 miR-137 参与精神分裂症发病调控的机制还需要进一步的实验研究。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Cannon TD. Abnormalities of brain structure and function in schizophrenia: implications for aetiology and pathophysiology [J]. *Ann Med*, 1996, 28(6): 533-539.
- [3] Murchison EP, Partridge JF, Tam OH, et al. Characterization of dicer-deficient murine embryonic stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(34): 12135-12140.
- [4] Wang Y, Medvid R, Melton C, et al. DGCR8 is essential for microRNA biogenesis and silencing of embryonic stem cell self-renewal [J]. *Nat Genet*, 2007, 39(3): 380-385.
- [5] Stark KL, Xu B, Bagchi A, et al. Altered brain microRNA biogenesis contributes to phenotypic deficits in a 22q11-deletion mouse model [J]. *Nat Genet*, 2008, 40(6): 751-760.
- [6] Sewell RA, Perry EB, Karper LP, et al. Clinical significance of neurological soft signs in schizophrenia: factor analysis of the Neurological Evaluation Scale [J]. *Schizophr Res*, 2010, 124(1/3): 1-12.
- [7] Skaper SD. Neuronal growth-promoting and inhibitory cues in neuroprotection and neuroregeneration [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 846: 13-22.
- [8] Yang Y, Calakos N. Presynaptic long-term plasticity [J]. *Front synaptic neurosci*, 2013, 5: 8.
- [9] Du J, Fu C, Sretavan DW. Eph/ephrin signaling as a potential therapeutic target after central nervous system injury [J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13(24): 2507-2518.
- [10] Nikolov DB, Xu K, Himanen JP. Eph/ephrin recognition and the role of Eph/ephrin clusters in signaling initiation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1834(10): 2160-2165.
- [11] Kwon EW, Tsai LH. Validation of schizophrenia-associated genes CSMD1, C10orf26, CACNA1C and TCF4 as miR-137 targets [J]. *Mol Psychiatry*, 2013, 18(1): 11-12.
- [12] Green EK, Grozeva D, Jones I, et al. The bipolar disorder risk allele at CACNA1C also confers risk of recurrent major depression and of schizophrenia [J]. *Mol Psychiatry*, 2010, 15(10): 1016-1022.

- goasthenospermia; a case-control study [J]. *Reprod Biomed Online*, 2014, 28(2):225-231.
- [7] Gong M, Dong W, He T, et al. MTHFR 677C>T polymorphism increases the male infertility risk; a meta-analysis involving 26 studies [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0121147.
- [8] 刘玲, 蔡志明, 冷慧敏, 等. MTHFR677T 和 MSA2756G 基因多态性与精液质量相关性研究 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2012, 37(10):1054-1059.
- [9] 王亚文, 李芬, 李义平, 等. 夫妻配对 MTHFR 基因型分布与不明原因反复流产的关系 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2002, 23(4):357-359.
- [10] 孙文萍, 万琪, 苏明权, 等. 西安地区汉族亚甲基四氢叶酸还原酶的两种基因型 [J]. *第四军医大学学报*, 2003, 24(7):634-636.
- [11] 李艾帆, 许予明, 郑红, 等. 河南汉族人群亚甲基四氢叶酸还原酶基因型 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2007, 15(10):17-20.
- [12] Binia A, Contreras AV, Canizales-Quinteros S, et al. Geographical and ethnic distribution of single nucleotide polymorphisms within genes of the folate/homocysteine pathway metabolism [J]. *Genes Nutr*, 2014, 9(5):421.
- [13] 裴丽君, 朱慧萍, 沈婉英, 等. 中国汉蒙两族人群 MTHFR 基因热敏感性多态分布的比较 [J]. *遗传*, 2000, 22(6):369-371.
- [14] Schneider JA, Rees DC, Liu YT, et al. World wide distribution of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation [J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 62(5):1258-1260.
- [15] Yan L, Li S, Zhao H, et al. Effect of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase genotypes in parents on the risk of congenital heart disease in offspring [J]. *Chin J Dis Control Prev*, 2003, 7(2):94-97.
- [16] Yin M, Dong L, Zheng J, et al. Meta analysis of the association between MTHFR C677T polymorphism and the risk of congenital heart defects [J]. *Ann Hum Genet*, 2012, 76(1):9-16.
- [17] Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, et al. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects [J]. *Lancet*, 1995, 345:149-151.
- [18] Yang M, Gong T, Lin X, et al. Maternal gene polymorphisms involved in folate metabolism and the risk of having a Down syndrome offspring; a meta-analysis [J]. *Mutagenesis*, 2013, 28(6):661-671.
- [19] Zhong S, Chen Z, Yu X, et al. A meta-analysis of genotypes and haplotypes of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in breast cancer [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(9):5775-5785.
- [20] Yang YB, Shang YH, Tan YL, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer in Chinese populations; a meta-analysis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(3):1345-1349.

(收稿日期:2015-11-20 修回日期:2016-01-23)

(上接第 1735 页)

- [13] Dao DT, Mahon PB, Cai X, et al. Mood disorder susceptibility gene CACNA1C modifies mood-related behaviors in mice and interacts with sex to influence behavior in mice and diagnosis in humans [J]. *Biol Psychiatry*, 2010, 68(9):801-810.
- [14] Bhat S, Dao DT, Terrillion CE, et al. CACNA1C (Cav1.2) in the pathophysiology of psychiatric disease [J]. *Prog Neurobiol*, 2012, 99(1):1-14.
- [15] Kim AH, Parker EK, Williamson V, et al. Experimental validation of candidate schizophrenia gene ZNF804A as target for hsa-miR-137 [J]. *Schizophr Res*, 2012, 141(1):60-64.
- [16] Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium. Genome-wide association study identifies five new schizophrenia loci [J]. *Nat Genet*, 2011, 43(10):969-976.
- [17] Cummings E. Mood congruent psychotic symptoms and specific cognitive deficits in carriers of the novel schizophrenia risk variant at MIR-137 [J]. *Neuroscience Letters*, 2013, 532:33-38.
- [18] Whalley HC, Pappmeyer M, Romaniuk L, et al. Impact of a microRNA MIR137 susceptibility variant on brain function in people at high genetic risk of schizophrenia or bipolar disorder [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2012, 37(12):2720-2729.
- [19] Green MJ, Cairns MJ, Wu J, et al. Genome-wide supported variant MIR137 and severe negative symptoms predict membership of an impaired cognitive subtype of schizophrenia [J]. *Mol Psychiatry*, 2013, 18(7):774-780.
- [20] Ma G, Yin J, Fu J, et al. Association of a miRNA-137 polymorphism with schizophrenia in a Southern Chinese Han population [J]. *Bio Med Res Intern*, 2014, 2014:751267.
- [21] Lett TA, Chakravaty MM, Felsky D, et al. The genome-wide supported microRNA-137 variant predicts phenotypic heterogeneity within schizophrenia [J]. *Mol Psychiatry*, 2013, 18(4):443-450.
- [22] Guan F, Zhang B, Yan T, et al. MIR137 gene and target gene CACNA1C of miR-137 contribute to schizophrenia susceptibility in Han Chinese [J]. *Schizophr Res*, 2014, 152(1):97-104.
- [23] Waldinger MD. Psychiatric disorders and sexual dysfunction [J]. *Handb Clin Neurol*, 2015, 130:469-489.
- [24] Zhang F, Chen Q, Ye T, et al. Evidence of sex-modulated association of ZNF804A with schizophrenia [J]. *Biol Psychiatry*, 2011, 69(10):914-917.

(收稿日期:2015-07-29 修回日期:2016-02-01)