

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2017.05.007

抑郁症快感缺失与多巴胺 D3 受体基因 rs6280 多态性的关联研究*

武伟丽 李功迎[△]

(济宁医学院精神卫生学院, 济宁 272067)

摘要 目的 探讨抑郁症快感缺失与多巴胺 D3 受体(DRD3)基因多态性的关系。方法 以 105 例具有快感缺失的抑郁症患者为观察对象,95 例身心健康的志愿者为对照,应用聚合酶链式反应(PCR)扩增技术和基因测序方法,检测 DRD3rs6280 分型,运用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,验证各种基因型和等位基因与抑郁症快感缺失的关系。结果 观察组与对照组间 DRD3 基因的 rs6280 位点各基因型频率与等位基因频率,差异均无统计学意义($P_{\text{均}} > 0.05$);观察组间不同程度快感缺失患者基因型与等位基因分布,差异无统计学意义($P_{\text{均}} > 0.05$);不同基因型之间快感缺失 SHAPS 评分比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 DRD3 rs6280 单核苷酸多态性与抑郁症快感缺失无关。

关键词 抑郁症;快感缺失;基因多态性

中图分类号:R749 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2017)10-338-04

Association study of anhedonia with DRD3 genepolymorphism in patients with major depressive disorder

WU Weili, LI Gongying

(School of Mental Health, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract; Objective To explore the association between anhedonia and genepolymorphism of DRD3 in depressive patients. **Methods** 105 depressive disorder patients with anhedonia were studied and 95 mental healthy volunteers were acted as control group. Polymerase chain reaction (PCR) amplification technology and gene sequencing were used to detect the genotype of DRD3 rs6280. All data were analyzed by SPSS22.0 statistics software exploring the relationship between various genotypes and depression as well as alleles. **Results** There was no significant difference in the distribution of genotypes and alleles between observation group and control group on the rs6280 locus of DRD3 gene ($P > 0.05$). After comparing the distribution of different genotypes and alleles between the high-degree anhedonia group and the low-degree group, there was no statistical significance on the locus of rs6280 in DRD3 gene ($P > 0.05$). The significant difference in the degree of anhedonia was not found among different genotypes ($P > 0.05$). **Conclusion** The genepolymorphism of DRD3 rs6280 was not associated with anhedonia in depression.

Keywords: Depression; Anhedonia; Gene polymorphism

抑郁症是以情绪低落、思维迟缓、意志行为减退为主要症状的一种常见精神障碍,而快感缺失亦为其核心症状。在 DSM-5 抑郁症诊断标准中,对

快感缺失描述为在一天中大部分时间对平日感兴趣的活动丧失兴趣或愉悦感^[1]。导致抑郁症快感缺失症状的生物学机制不明确,研究者试图从神经解剖学研究、炎症机制及分子遗传学研究等角度探讨其生物学机制,其中遗传学机制具有重要作用。解剖学研究表明,中脑边缘系统的多巴胺能神经通路的功能异常是抑郁症快感缺失及动机缺乏的病

* [基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81571334);山东省研究生教育创新计划项目(SDYY15012)

[△] [通信作者] 李功迎, E-mail: ligongying2005@126.com

理基础,而对于快感缺失的遗传学机制的研究较少^[2-3]。多巴胺 D3 受体基因(*DRD3*),位于 3 号染色体长臂 1 区 3 带 3 亚带(3q13.3),其编码序列由 6 个外显子和 5 个内含子构成。在 *DRD3* 基因多态性的研究中,对 rs6280 (Ser/Gly) 多态性的研究是最广泛的。该多态位点位于第 1 外显子,在 mRNA 第 9 密码子中腺嘌呤(A)被鸟嘌呤(G)替代,可致 D3 受体胞外 N-末端的丝氨酸(Ser)变为甘氨酸(Gly),进而影响 D3 受体的活性,称作“Ser9Gly”多态性^[4]。目前有关 *DRD3*Ser9Gly 多态性(rs6280)与快感缺失直接相关性的研究较少,本研究旨在探讨 *DRD3*rs6280 基因多态性与抑郁症快感缺失之间的关联性,为研究抑郁症快感缺失的遗传机制提供一定的理论依据。

1 对象与方法

1.1 对象

观察组来源于 2016 年 3 月 1 日至 2016 年 10 月 30 日在济宁医学院第二附属医院(济宁市精神病防治院)住院治疗的抑郁症患者。入组标准:1)符合 DSM-5 中抑郁症的诊断标准,无抗抑郁药物治疗禁忌症,并由两名以上精神科主任医师分别确诊,确保诊断明确。2)汉密尔顿抑郁量表 24 项评分 ≥ 21 分,且经快感缺失量表(SHAPS 表)评定,分数 ≥ 3 分。SHAPS 总分为 14 分,当分数 ≥ 3 分时,代表有快感缺失;当分数 ≥ 7 分时,表示有重度快感缺失。3)汉族,年龄在 30~60 岁之间。排除标准:1)伴精神病性特征者。2)产后抑郁症患者。3)抑郁发作的首发年龄小于 25 岁。4)存在双相情感障碍、自杀及边缘性人格障碍家族史。5)复发性抑郁者 4 次以上者。6)孕期或哺乳期妇女。7)脑肿瘤、癫痫、脑外伤导致意识障碍超过 5min、脑器质性疾病及其他神经系统疾病病史者。8)合并任何精神活性物质滥用或依赖者(尼古丁除外)。9)智力低下者。10)文盲。观察组共 105 例,其中,女性 80 例,男性 25 例。平均年龄(44.72 ± 8.58)岁,受教育年限平均(8.14 ± 3.11)年。根据快感缺失程度高低再分组,其中,高程度快感缺失(≥ 7 分)与低程度快感缺失(< 7 分)分别为 73 例和 32 例。

对照组:选自 2015 年 10 月 1 日至 2016 年 10 月 30 日在社区或至济宁市第二附属医院健康体检的心身健康志愿者。入组标准:1)性别、年龄、受

教育年限与观察组相匹配。2)HAMD-24 评分 < 8 分,且 SHAPS < 3 分。3)无精神疾病史及家族史。排除标准:1)神经系统检查有阳性体征,有严重的躯体疾病、颅脑外伤或其他神经系统疾病史。2)有吸毒史及其他任何精神活性物质滥用史。共入组 95 例,其中女性 66 例,男性 29 例,平均年龄(45.99 ± 6.65)岁,受教育年限平均(7.67 ± 2.79)年。

观察组和对照组在性别和年龄、受教育年限方面统计学无差异($P > 0.05$),说明两组间一般入学资料相匹配,具有可比性。见表 1。

本研究经济宁医学院第二附属医院医学伦理委员会批准,所有受试者均被告知实验的目的、原因和方法,以及参加该项研究可能造成的不适和风险,所有受试者均为自愿参加,并签署知情同意书。

表 1 两组一般人口学资料的比较

组别	n	性别(男/女)	年龄(岁)	受教育年限(a)
观察组	105	25/80	44.72 ± 8.58	8.14 ± 3.11
对照组	95	29/66	45.99 ± 6.65	7.67 ± 2.79
χ^2/t		1.14	-1.14	1.14
P		0.29	0.25	0.29

1.2 方法

每位受试者抽取清晨空腹肘静脉血 5ml 于 EDTA 抗凝剂抗凝的真空采血管中。采用离心柱法对所采取的血液进行 DNA 提取,所用试剂为北京天根生物科技有限公司的中量血基因组 DNA 提取试剂盒。应用 NanoDrop-2000 分光光度计检测所提取 DNA 的浓度和纯度。根据美国国立生物技术信息中心(NCBI)的 PUBMED 数据库提供的 *DRD3*rs6280 基因序列,运用引物设计软件 premier 5.0 进行引物设计。引物由上海生工生物科技有限公司合成,合成产物呈干粉状,稍离心后按要求加入一定量的双纯水。引物序列,上游引物:5'~3' AGGATGAGCGCGCAGTAGGA;下游引物:5'~3' AC-CAAGCCCCAAAGAGTCTGA 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 30 μ l,反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 1min, 95 $^{\circ}$ C 变性 5s, 53 $^{\circ}$ C 退火 15s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20s, 经 35 个循环, 72 $^{\circ}$ C 最终延伸 10min, 4 $^{\circ}$ C。用配制的经 EB 染色的 1% 琼脂糖凝胶电泳,应用 markerD2000 为分子量标准品检查各片段大小,分离 20min 后,利用紫外线荧光凝胶成像仪检测扩增结果,荧光凝胶

在紫外线灯下显示出满意条带后,将剩余 PCR 扩增产物送公司测序。采用 chromas 软件读取基因型,基因型分别为 CC、CT、TT。

1.3 统计学方法

采用 SPSS22.0 统计学软件对数据进行处理分析,计量资料用均数 $\pm$ 标准差表示。观察组和对照组的年龄、受教育年限等进行独立样本 t 检验,性别差异采用 χ^2 检验;各组基因型与等位基因频数之间的比较用 χ^2 检验,用 Hardy-Weiberg 平衡定律进行检测,查看是否具有较好的群体代表性;单因素多个独立样本采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA);设定 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验

观察组 rs6280 基因型分布 ($\chi^2 = 4.62, P = 0.08$),正常对照组 rs6280 基因型分布 ($\chi^2 = 2.14, P = 0.16$),两组基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律 ($P > 0.05$)。表明本研究样本为完全随机样本,具有较好的群体代表性。

2.2 两组间 DRD3rs6280 基因型和等位基因的分布比较

观察组与对照组 rs6280 各基因型分布和等位基因分布差异均无统计学意义。见表 2。

表 2 观察组和对照组基因型与等位基因分布比较 (n/%)

组别	n	基因型			等位基因	
		CC	CT	TT	C	T
观察组	105	16(15.2)	31(29.5)	58(55.2)	63(30.0)	152(70.0)
对照组	95	10(10.5)	26(27.4)	59(62.1)	46(24.2)	144(75.8)
χ^2			1.34			1.69
P			0.51			0.19

2.3 观察组不同基因型快感缺失严重程度的比较

不同基因型之间快感缺失 SHAPS 评分比较,采用单因素方差分析,结果显示,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 观察组间不同基因型 SHAPS 评分比较

基因型	n	SHAPS 评分	F	P
CC	16	7.65 $\pm$ 1.99		
CT	31	8.03 $\pm$ 2.75	0.51	0.60
TT	58	8.32 $\pm$ 2.46		

2.4 观察组间不同程度快感缺失患者基因型与等位基因分布

结果显示,2 组间基因型分布差异无统计学意义;且 2 组间等位基因分布差异亦无统计学意义。见表 4。

表 4 高、低快感缺失患者基因型与等位基因分布比较 (n/%)

亚组	n	基因型			等位基因	
		CC	CT	TT	C	T
高	73	9(12.3)	21(28.8)	43(58.9)	39(26.7)	107(73.3)
低	32	7(21.9)	10(31.2)	15(46.9)	24(37.5)	40(62.5)
χ^2			1.69			2.47
P			0.19			0.12

注:高为高程度快感缺失;低为低程度快感缺失

3 讨论

抑郁症以显著而持久的心境低落为主要临床特征,同时又常伴有不同程度的快感缺失症状,抑郁情绪和快感缺失为抑郁症两大核心症状。研究表明,抑郁症的快感缺失与中枢多巴胺能神经通路的异常有关^[2-3]。在中脑边缘系统中,尤其是伏隔核在奖赏系统中具有重要地位,有研究表明伏隔核内多巴胺 (DA) 浓度的下降将会导致个体对奖赏相关行为刺激反应性下降或对成瘾性物质的趋向性降低^[5]。抑郁症快感缺失的存在和对奖赏刺激缺乏反应,常预示抑郁症治疗困难和预后欠佳,并且遗传学因素在抑郁症及抑郁症快感缺失的发生、发展中具有重要作用^[6]。从 D3 受体的组织分布特点及功能可以看出,D3 受体可能在抑郁症及奖赏系统及其在抑郁症快感缺失的发生发展上具有重要作用。研究表明^[7],多巴胺 D3 受体基因 rs6280 单核苷酸多态性参与奖赏相关 DA 的释放,并可能参与影响快感缺失症状,但是关于 DRD3Ser9Gly 多态性(rs6280)与快感缺失直接相关性的研究较少。在 DRD3 基因多态性与快感缺失的研究中,有研究结果发现^[7],在抑郁症患者中,Gly 等位基因携带者与 Ser/Ser 纯合子之间相比较,前者快感缺失更严重,其快感缺失程度经快感缺失量表评估。并且这种 Gly 等位基因与快感缺失之间的关系与临床前研究数据是一致的,即慢性应激和厌恶刺激使腹侧海马活动亢进,会诱发多巴胺系统电生理学(即多巴胺神经元的自发放电)和行为学(对精神

兴奋剂的追求)明显的激活^[8]。既往结合影像学研究 *DRD3*Ser9Gly 多态性与奖赏系统的相关性及奖赏系统脑区变化的结果表明,*DRD3*Ser9Gly 错义突变会影响奖赏相关的纹状体中 D3 受体的结合,从而影响到多巴胺(DA)的释放,参与影响快感缺失症状。在 Savitz 等^[7]对 26 个健康受试者和 10 名未服药的抑郁症患者研究中,受试者在完成感觉控制条件和不可预知的奖赏条件下,分别完成两组利用[11C]雷氯必利示踪法的正电子发射断层显像(PET)扫描,此方法目的是应用[11C]雷氯必利-PET 成像检测在奖赏过程中 DA 释放的量。通过控制年龄、性别、诊断和自我报告的快感缺失后的相关回归分析显示,在收到不可预知的金钱奖励中,Gly 等位基因携带者表现出了尾状核和腹侧纹状体 D2/3 受体结合减少,也就是说增加了与奖赏相关的 DA 的释放。

本文结果显示 *DRD3*rs6280 不同基因型之间的快感缺失无显著差异。并且当我们按照快感缺失程度的不同来进行分组比较时,结果显示高、低程度快感缺失组,基因型与等位基因的分布亦未见明显差异,这与 Savitz^[7]结果不同。Savitz 结合影像学技术和基因多态性的研究中,显示 Gly 等位基因与快感缺失密切相关,并且参与影响奖赏相关的多巴胺的释放,影像学结果显示出纹状体对奖赏的反应性下降。其他对快感缺失或奖赏相关行为影像学的研究结果也表现出了相似的结果^[9-11]。结合本文结果,虽未发现 *DRD3*rs6280 与抑郁症快感缺失的直接相关关系,但我们可以推测 *DRD3*rs6280 参与了与奖赏相关的多巴胺的释放,从而参与影响抑郁症的快感缺失。当然,抑郁症是一个多基因遗传疾病,同时受到环境、心理等因素影响。并且导致疾病发生可能由几个或多个遗传位点变异引起的,单一基因位点的变异不足以引起抑郁症的快感缺失症状。同时样本量大小及种族、地域的差异也会导致不同结果的出现。本研究不足之处在于样本含量较小,仍需扩大样本含量进一步研究。

参考文献:

- [1] Association A. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-V[M]. Springer Berlin Heidelberg, 2013: 160-161.
- [2] Russo SJ, Nestler EJ. The brain reward circuitry in mood disorders[J]. Nat Rev Neurosci, 2013, 14(9): 609-625. DOI: 10. 1038/nrn3381.
- [3] Pizzagalli DA. Depression, stress, and anhedonia: toward a synthesis and integrated model[J]. Annu Rev Clin Psychol, 2014, 10: 393-423. DOI: 10. 1146/annurev-clinpsy-050212-185606.
- [4] Jeanneteau F, Funalot B, Jankovic J, et al. A functional variant of the dopamine D3 receptor is associated with risk and age-at-onset of essential tremor[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(28): 10753-10758. DOI: 10. 1073/pnas. 0508189103.
- [5] Saunders BT, Robinson TE. The role of dopamine in the accumbens core in the expression of Pavlovian-conditioned responses[J]. Eur J Neurosci, 2012, 36(4): 2521-2532. DOI: 10. 1111/j. 1460-9568. 2012. 08217. x.
- [6] Kasch KL, Rottenberg J, Arnow BA, et al. Behavioral activation and inhibition systems and the severity and course of depression[J]. J Abnorm Psychol, 2002, 111(4): 589-597. DOI: 10. 1037//0021-843x. 111. 4. 589.
- [7] Savitz J, Hodgkinson CA, Martin-Soelch C, et al. The functional *DRD3* Ser9Gly polymorphism (rs6280) is pleiotropic, affecting reward as well as movement[J]. PLoS ONE, 2013, 8(1): e54108. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0054108.
- [8] Valenti O, Lodge DJ, Grace AA. Aversive stimuli alter ventral tegmental area dopamine neuron activity via a common action in the ventral hippocampus[J]. J Neurosci, 2011, 31(11): 4280-4289. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 5310-10. 2011.
- [9] McCabe C, Cowen PJ, Harmer CJ. Neural representation of reward in recovered depressed patients[J]. Psychopharmacology (Berl), 2009, 205(4): 667-677. DOI: 10. 1007/s00213-009-1573-9.
- [10] Mitterschiffthaler MT, Kumari V, Malhi GS, et al. Neural response to pleasant stimuli in anhedonia: an fMRI study[J]. Neuroreport, 2003, 14(2): 177-182. DOI: 10. 1097/01. wnr. 0000053758. 76853. cc.
- [11] Epstein J, Pan H, Kocsis JH, et al. Lack of ventral striatal response to positive stimuli in depressed versus normal subjects[J]. Am J Psychiatry, 2006, 163(10): 1784-1790. DOI: 10. 1176/ajp. 2006. 163. 10. 1784.

(收稿日期 2017-07-12)

(本文编辑:甘慧敏)