

Relationship between Slitrk1 Gene and Depression Symptoms in Chinese Han Patients with Tourette Syndrome

Weidong Ji^{1,2,3*}, Ning Li⁴

¹Shanghai Changning Mental Health Center, Shanghai

²Changning Mental Health Center, East China Normal University, Shanghai

³Research Center for Child Development, East China Normal University, Shanghai

⁴The Second Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang Henan

Email: jjdong1999@126.com

Received: May 27th, 2019; accepted: June 11th, 2019; published: June 18th, 2019

Abstract

Objective: To investigate the relationship between the single nucleotide polymorphism of Slitrk1 gene and the depressive symptoms of Chinese Han patients with Tourette syndrome. **Methods:** A case-control study was conducted. 1000 Chinese patients with Tourette syndrome were included in the study. General demographic data and clinical data were collected. Excel software was used to establish the database. The whole genome DNA of the research object was extracted, and the genotypes of four single nucleotide polymorphisms in the Slitrk1 gene were determined by Taqman probe typing technology. The genotype frequency was performed in the two groups using the SHEsis software. **Results:** The distribution of four SNPs in the Slitrk1 gene was consistent with the Hardy-Weinberg genetic equilibrium law ($P > 0.05$). The genotype distribution frequency of gene rs144821830 was statistically significant ($P = 0.005$). The frequency of CT genotype was higher in the case group than in the control group, and the frequency of TT genotype was lower than that of the control group; gene rs3737193, rs144800086. The genotype frequencies of rs145628951 loci were not different between the two groups ($p < 0.05$). Compared with the normal control group, there was no significant difference in the genotype and allele frequency of the Slitrk1 locus between the TS depression group and its subgroup ($P > 0.05$). **Conclusion:** The Slitrk1 gene (rs144821830) may be involved in the pathogenesis of Chinese Han patients with Tourette syndrome. No relationship was found between the Slitrk1 gene (rs144821830) and the depressive symptoms of Chinese Han patients with Tourette Syndrome.

Keywords

Tourette Syndrome, Slitrk1 Gene, Depression, Genome Scan, Single Nucleotide Polymorphism, Taqman Probe Technology

*通讯作者。

Slitrk1基因和中国汉族抽动秽语综合症患者抑郁关系研究

季卫东^{1,2,3*}, 李 宁⁴

¹上海市长宁区精神卫生中心, 上海

²华东师范大学附属精神卫生中心, 上海

³华东师范大学儿童心理与行为发展研究中心, 上海

⁴新乡医学院二附院, 河南 新乡

Email: jidong1999@126.com

收稿日期: 2019年5月27日; 录用日期: 2019年6月11日; 发布日期: 2019年6月18日

摘 要

目的: 探讨Slitrk1基因单核苷酸多态性与中国汉族抽动秽语综合症抑郁症状之间的关联性。方法: 采用病例对照研究, 纳入研究的中国汉族抽动秽语综合症患者1000例, 对照1000例, 收集一般人口学资料及临床数据, 应用Excel软件建立数据库。提取研究对象全基因组DNA, 利用Taqman探针分型技术对Slitrk1基因中四个单核苷酸多态性位点进行基因型的测定, 采用SHEsis软件平台, 在两组人群中进行基因型频率的分析。结果: Slitrk1基因4个SNPs位点在人群中的分布均符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律($P > 0.05$)。基因rs144821830位点的基因型分布频率在两组间差异有统计学意义($P = 0.005$), 其中病例组中CT基因型频率高于对照组, TT基因型频率低于对照组; 基因rs3737193、rs14480086、rs145628951位点的基因型频率在两组间均无差异($p < 0.05$)。与正常对照组比较, TS抑郁组及其亚组Slitrk1位点基因型及等位基因频率没有统计学差异(均 $P > 0.05$)。结论: Slitrk1基因(rs144821830)位点与中国汉族人群中国汉族抽动秽语综合症相关联, Slitrk1基因可能参与了中国汉族抽动秽语综合症的发病机制。没有发现Slitrk1基因(rs144821830)和中国汉族抽动秽语综合症患者的抑郁症状之间的关系。

关键词

中国汉族抽动秽语综合症, Slitrk1基因, 抑郁, 基因组扫描, 单核苷酸多态性, Taqman探针技术

Copyright © 2019 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

抽动秽语综合症(Tourette syndrome, TS)是一种由多因素所致的复杂的精神障碍, 约占住院精神疾病的80%, 家系调查、双生子及寄养子研究均显示遗传因素与发病密切相关(季卫东, 2012)。传统的精神疾病遗传学研究较多关注多巴胺系统、五羟色胺系统、谷氨酸系统等神经递质系统以及神经营养因子家族蛋白的结构特点(陈静&陆峥, 2014)。近年来, 一种名为SLITRK的基因家族逐渐受到研究者的关注(靳雁斌&范文红, 2006)。人SLITRK1基因编码含693个氨基酸的蛋白, 与小鼠同源蛋白有97.6%的同源性,

主要分布在脑组织(Beaubien, Raja, et al., 2016)。有研究认为该蛋白参与皮质-纹状体-丘脑-皮质回路(CSTC)发育调控表达模式。Slitrk1 基因是其 6 个家族成员之一, 主要表达于神经系统, 参与调节神经细胞突起生长(Larsen, Momeni, et al., 2014)。因 Choi 等在研究中指出 SKITRK1 基因作为抽动秽语综合征的候选基因, 在前额叶皮质中的表达是随着年龄发生变化的, 在发育过程中如出现异常, 可能会导致疾病的发生(Choi, Augustine, et al., 2013)。目前研究资料显示抽动秽语综合征的患病率在 1.0%~3.8%之间, 患病率男性大于女性, 常伴有多动、冲动、强迫、抑郁等行为和情绪障碍, 临床现象学研究发现 TS 共病现象明显。因此, 为了解 SLITRK1 基因多态性是否与中国汉族抽动秽语综合症及其抑郁症状存在关联, 我们选择了中国汉族抽动秽语综合症患者和某区健康对照者群体, 对 Slitrk1 基因进行了全基因组扫描研究。

2. 对象

选择住院及门诊的病例和对照人群进行研究。以符合 ICD-10 中抽动秽语综合症诊断标准的住院及门诊患者为研究对象, 排除器质性精神障碍、精神活性物质和非成瘾物质所致精神障碍, 共 1000 例。其中男 612 例, 女 388 例; 年龄 12~17 (12.4 ± 4.6)岁; 患者间均无血缘关系。对照组来自某区血液中心的献血者, 共 1000 名。其中男 634 名, 女 366 名; 年龄 12~18 (12.3 ± 5.2)岁。血样采集于 2015 年 8 月~2017 年 10 月。本研究得到了伦理委员会的批准。被测对象或监护人均签署知情同意书。

3. 方法

TaqMan 荧光探针是一种寡核苷酸探针, 荧光基团连接在探针的 5'末端, 而淬灭剂则在 3'末端。PCR 扩增时在加入一对引物的同时加入一个特异性的荧光探针, 探针完整时, 报告基团发射的荧光信号被淬灭基团吸收; PCR 扩增时, Taq 酶的 5'-3'外切酶活性将探针酶切降解, 使报告荧光基团和淬灭荧光基团分离, 从而荧光监测系统可接收到荧光信号, 即每扩增一条 DNA 链, 就有一个荧光分子形成, 实现了荧光信号的累积与 PCR 产物形成完全同步。常用的荧光基团是 FAM, TET, VIC, HEX。而新型 TaqMan-MGB 探针使该技术既可进行基因定量分析, 又可分析基因突变(SNP), 有望成为基因诊断和个体化用药分析的首选技术平台。

1) DNA 提取方法: 取病例及对照的肘静脉血 2 ml, 利用血液基因组 DNA 提取系统提取外周血 DNA, 用于基因分型。

2) 单核苷酸多态性(SNP)的筛选: 总结大量 SLITRK1 基因多态性与中国汉族抽动秽语综合症关联性研究的成果, 我们选取候选 SNP: rs3737193、rs144800086、rs145628951 及 rs144821830。

3) 基因分型方法: 本研究采用 Taqman 探针分型技术, 所使用的基因分型探针及 TaqManUniversal PCR MasterMix 均由上海交通大学 bio-x 研究院提供。PCR 反应在 GeneAmp PCR 9700 系统中进行。PCR 反应体系 5 ul, 包括: 40 ng DNA, 2.5ul PCR 反应混合液和 0.035 ul 的 Taqman 探针。反应条件设定为: 94°C 1 min; 94°C 30 S, 72°C 30 S, 30 个循环; 4°C 保温。反应产物利用 ABI 7900 DNA 检测系统进行基因型的确定。其中有 98.7%对照及 98.6%病例的基因型被成功确定。为保证基因分型的准确性及可靠性, 本研究从两组中随机选取 3%的样本再次进行基因分型, 发现与之前的实验结果相一致。

4) 儿童抑郁量表(Children's Depression Inventory, CDI)评估抑郁水平, 该量表包括 27 个条目, 含有 5 个因子: 负性情绪、人际问题、低效能感、快感缺乏和负性自尊, 采用 0~2 级评分, 量表总分 54 分, 得分越高表明抑郁病症越重, 该量表中文版具有良好的效度和信度(吴文峰, 卢永彪, 等, 2010)。

5) 统计分析: 利用 EXCEL 软件建立数据库, 采用 SPSS17.0 软件对两组人群的年龄进行 t 检验, 对性别进行 χ^2 检验, 利用 SHEsis 软件平台进行病例组与对照组的 Hardy-Weinberg 遗传平衡度检验, 组间基因型频率的差异, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

4. 结果

1) 研究对象的年龄及性别的异质性检验:

纳入研究的病例组共计 1000 例, 男性 612 例(占 61.2%), 女性 388 例(占 38.8%), 平均年龄: 12.4 ± 4.6 岁, 对照组共计 1000 例, 男性 634 例(占 63.4%), 女性 366 例(占 36.6%), 平均年龄: 12.3 ± 5.2 岁。病例组与对照组一般人口学资料分析经 SPSS17.0 软件分析, 两组受试者在年龄、性别上均差异无统计学意义(见表 1)。

Table 1. Comparison of general data between case group and control group

表 1. 病例组与对照组一般资料比较

		抽动秽语综合症(n = 1000)	对照组(n = 1000)	p值
性别	男	612 (61.2%)	634 (63.4%)	0.228
	女	388 (38.8%)	366 (36.6%)	
年龄		12.4 ± 4.6	12.3 ± 5.2	0.091

计数资料使用卡方检验, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

2) Hardy-Weinberg 遗传平衡度检验:

通过 SHEsis 软件进行分析后发现, 各组 *Slitrk1* 基因中位点 rs3737193、rs144800086、rs145628951 及 rs144821830 多态性基因型符合 Hardy-Weinberg 平衡(HWE)定律($P > 0.05$)。

3) 基因型分布频率差异的分析:

对于 rs3737193 位点, 在病例组中, AA 基因型频率为 85.1%, GA 基因型频率为 7.7%, GG 基因型频率为 1.7%; 对照组中, AA 基因型频率为 85.6%, GA 基因型频率为 7.0%, GG 基因型频率为 0%, 两组基因型频率分布无显著差异($P = 0.782$)。

对于 rs144800086 位点, 在病例组中, CC 基因型频率为 98.8%, TC 基因型频率为 1.2%; 对照组中, CC 基因型的频率为 97.8%, TC 基因型的频率为 2.2%, 两组基因型频率分布也无显著差异($P = 0.084$)。

对于 rs145628951 位点, 在病例组中, AA 基因型频率为 98.8%, CA 基因型频率为 1.1%; 对照组中, AA 基因型的频率为 97.8%, CA 基因型的频率为 2.2%, 两组基因型频率分布也无显著差异($P = 0.095$)。

对于 rs144821830 位点, 在病例组中, CT 基因型频率为 2.2%, TT 基因型频率为 97.8%; 对照组中, CT 基因型的频率为 0.8%, TT 基因型的频率为 98.8%, 两组基因型频率分布存在显著差异($P = 0.005$) (见表 2)。

4) TS 儿童组不同 *Slitrk1* 基因型(rs144821830) CDI 得分比较:

按照是否携带(rs144821830)不同, 我们把携带 rs144821830 基因(以 rs144821830⁺表示)和其它等位基因(以 rs144821830⁻表示)分开研究, 在 TS 组内, 携带 rs144821830 组和非携带组 CDI 总分、因子分比较未发现存在统计学差异(均 $P > 0.05$) (见表 3)。

5. 讨论

抽动秽语综合症是一组病因未明的精神神经障碍, 以不自主的、突然的多发性抽动以及在抽动的同时伴有爆发性发声和秽语为主要表现, 男性多见, 男女之比为 3:1, 90%以上于 2~12 岁之间起病。近年来, 大量分子遗传学的连锁和关联分析的研究揭示中国汉族抽动秽语综合症是一种多基因遗传疾病, 以 SNP 为基础, 随机人群的关联性研究方法也被广泛应用于中国汉族抽动秽语综合症的遗传学研究。本研究中, 我们以上述知识背景为基础, 采用 Taqman 探针及 DNA 测序法进行 SNPs 的检测。与传统检测方

Table 2. Data analysis results of case group and control group**表 2.** 病例组与对照组 rs3737193、rs144800086、rs145628951 及 rs144821830 位点数据分析结果

SNP	组别	基因型频率				p值
		00	AA	GA	GG	
rs3737193	病例组	77 (7.7%)	851 (85.1%)	71 (7.7%)	1 (1.7%)	0.782
	对照组	74 (7.4%)	856 (85.6%)	70 (7.0%)	0 (0)	
rs144800086	病例组	988 (98.8%)	12 (1.2%)			0.084
	对照组	978 (97.8%)	22 (2.2%)			
rs145628951	病例组	00	AA	CA		0.095
	对照组	1 (1%)	988 (98.8%)	11 (1.1%)		
rs144821830	病例组	0 (0%)	CT	TT		0.005**
	对照组	4 (0.4%)	8 (0.8%)	988 (98.8%)		

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ 。**Table 3.** Comparison of CDI scores of different children carrying genotypes in children with TS**表 3.** TS 儿童不同携带基因型 CDI 得分比较($\bar{x} \pm s$)

项目	rs144821830 ⁺ (n = 361)	rs144821830 ⁻ (n = 639)	t 值	P 值
CDI 总分	26.1 ± 10.5	23.6 ± 9.5	1.40	0.34
负性情绪	3.8 ± 1.8	3.5 ± 1.4	1.71	0.28
人际问题	2.8 ± 1.7	2.3 ± 1.5	1.33	0.13
低效感	2.3 ± 1.4	2.2 ± 1.2	1.19	0.24
快感缺乏	5.1 ± 1.5	4.8 ± 1.7	1.50	0.31
负性自尊	3.1 ± 1.3	3.2 ± 1.4	1.74	0.39

法中的聚合酶链反应 - 限制性内切酶(PCR-RFLP)相比, Taqman 探针技术及 DNA 测序法存在明显优势, Taqman 探针技术有短、频、快的特点, 适合大样本量的研究, 本研究为进一步说明 Taqman 探针方法的可靠性, 随机抽取病例组与对照组中共计 3% 的样本, 进行重复试验, 重复率为 100%。

国内外关于 Slitrk1 基因的研究, 主要以抽动秽语综合征(Zimprich, Hatala, et al., 2018)、ADHD (Lennington, Coppola, et al., 2015)、拔毛癖(Zuchner, Cuccaro, et al., 2016)、强迫症疾病(Ashley-Koch, Zuchner, et al., 2008; Ozomaro, Cai, et al., 2013)等为主, 该基因与中国汉族抽动秽语综合症的关联性研究甚少。有研究认为 Slitrk1 参与皮质 - 纹状体 - 丘脑 - 皮质回路(CSTC)发育调控表达模式, 而皮质 - 纹状体 - 丘脑 - 皮质的神经回路传导障碍已被证实与抑郁症状的产生有关(Katayama, Yamada, et al., 2010)。本研究中, 首次在中国汉族人群进行了 Slitrk1 基因多态性与中国汉族抽动秽语综合症关联性的研究, 并得到

了较为理想的结果。由于 TS 临床症状多样, 大部分 TS 儿童存在共病现象, 常见的共病包括情绪障碍、注意缺陷多动障碍(ADHD)和强迫性障碍等(Dale, 2017)。有研究发现 TS 共病比例最高的不是我们以往认为的 ADHD, 而是心境障碍, 多项对照研究发现 13%~76% 的 TS 儿童可伴有抑郁症状, 被诊断为重性抑郁障碍者(23%)明显高于对照组(Kim, Barr, et al., 2018), TS 儿童一级亲属中心境障碍发生率也明显高于对照组, 抑郁症状和抽动严重程度有明显相关性, 说明抑郁症状或许是 TS 临床现象学的一部分, Piedad 等认为伴有抑郁的 TS 患者可视为一个新的临床亚型, 并且和临床预后有关(Piedad & Cavanna, 2016)。本研究比较的结果未发现 *Slitrk1* 基因型与 CDI 总分、各因子分之间有差异性, 提示 TS 共病抑郁和 *Slitrk1* 基因型可能没有关系, 但可能与抑郁继发性相关, 而非 TS 本质现象学。

由于抽动秽语综合症是一种多基因疾病, 同一种表型可能是由于同一代谢途径或信号传导途径上不同基因发生突变的结果, 所以在一个群体中孤立地针对某个热门候选基因与疾病进行单独地关联分析, 可能难以达到显著性水平, 以后有待于扩大样本量深入研究。

基金项目

感谢上海市卫计委重点专科(ZK2015B01), 上海市卫计委课题(201540114), 上海市长宁区重点专科和名医名科项目资助。

参考文献

- 陈静, 陆峥(2014). 中国汉族抽动秽语综合症遗传学研究进展. *国际精神病学杂志*, 22(1), 35-37.
- 季卫东(2012). *儿童青少年精神障碍诊疗指南*. 北京: 人民卫生出版社.
- 靳雁斌, 范文红, 范明(2006). *Slitrk* 基因家族的研究进展. *临床与病理杂志*, 26(2), 159-161.
- 吴文峰, 卢永彪, 谭芙蓉, 姚树桥(2010). 儿童抑郁量表中文版在中小學生中的信效度. *中国心理卫生杂志*, 24(10), 775-779.
- Ashley-Koch, A. E., Zuchner, S., Cuccaro, M. L. et al. (2008). *SLITRK1* Mutations Associated with Disorders in the OCD Spectrum. US, US 20080038842 A1.
- Beaubien, F., Raja, R., Kennedy, T. E., Fournier, A. E., & Cloutier, J. F. (2016). *Slitrk1* Is Localized to Excitatory Synapses and Promotes Their Development. *Scientific Reports*, 6, Article No. 27343. <https://doi.org/10.1038/srep27343>
- Choi, Augustine, M. K., Ryter, s. W., & Levine, B. (2013). Mechanisms of Disease Autophagy in Human Health and Disease. *New England Journal of Medicine*, 368, 651-662. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1205406>
- Dale, R. C. (2017). Tics and Tourette: A Clinical, Pathophysiological and Etiological Review. *Current Opinion in Pediatrics*, 29, 665-673. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000546>
- Katayama, K., Yamada, K., Ornthanalai, V. G. et al. (2010). *Slitrk1*-Deficient Mice Display Elevated Anxiety-Like Behavior and Noradrenergic Abnormalities. *Molecular Psychiatry*, 15, 177-184. <https://doi.org/10.1038/mp.2008.97>
- Kim, D. D., Barr, A. M., Chung, Y. et al. (2018). Antipsychotic-Associated Symptoms of Tourette Syndrome: A Systematic Review. *CNS Drugs*, 32, 917-938. <https://doi.org/10.1007/s40263-018-0559-8>
- Larsen, K., Momeni, J., Farajzadeh, L. et al. (2014). Porcine *SLITRK1*: Molecular Cloning and Characterization. *FEBS Open Bio*, 4, 872-878. <https://doi.org/10.1016/j.fob.2014.10.001>
- Lenington, J. B., Coppola, G., & Fernandez, T. V. (2015). Genetics of Tourette Syndrome. In *Movement Disorder Genetics* (pp. 169-189). Berlin: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-17223-1_9
- Ozomaro, U., Cai, G., Kajiwara, Y. et al. (2013). Characterization of, *SLITRK1*, Variation in Obsessive-Compulsive Disorder. *PLoS ONE*, 8, e70376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070376>
- Piedad, J. C., & Cavanna, A. E. (2016). Depression in Tourette Syndrome: A Controlled and Comparison Study. *Journal of Neuroscience*, 364, 128-132. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2016.03.030>
- Zimprich, A., Hatala, K., Riederer, F., Stogmann, E., Aschauer, H. N., & Stamenkovic, M. (2018). Sequence Analysis of the Complete *SLITRK1* Gene in Austrian Patients with Tourette's Disorder. *Psychiatric Genetics*, 18, 308-309. <https://doi.org/10.1097/YPG.0b013e3283060f6f>
- Zuchner, S., Cuccaro, M. L., Tran-Viet, K. N. et al. (2016). *SLITRK1* Mutations in Trichotillomania. *Molecular Psychiatry*, 11, 887-889. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001898>

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2160-7273，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：ap@hanspub.org