

〔文章编号〕 1007-0893(2020)24-0028-02

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2020.24.012

DRD2 基因外显子与抑郁症的关系探讨

陈钊来

(湘潭第五人民医院, 湖南 湘潭 411100)

〔摘要〕 **目的:** 探讨 DRD2 基因外显子与抑郁症的关系。**方法:** 选取 2018 年 9 月至 2020 年 9 月湘潭第五人民医院收治的 80 例抑郁症患者, 构建 3 个 DNA 混合样本; 选取同时期 80 名健康人员, 构建 2 个 DNA 混合样本。将上述 DNA 混合样本作为 DNA 模板, 实施聚合酶链扩增, 使用 Light Scanner 高分辨率熔解曲线进行突变情况的筛查, 并对 Tc 值进行确定; 再对聚合酶链式反应 (PCR) 产物进行 40 倍的稀释, 予以低温变性共扩增聚合酶链式反应技术 (COLD-PCR) 扩增后使用高分辨率熔解曲线进行突变情况的筛查, 对筛查结果进行观察。**结果:** 对两组研究对象进行比较可知, 抑郁症患者 DRD2 基因外显子并未存在显著的突变情况。**结论:** 抑郁症的病因可能并非源于 DRD2 基因外显子的突变。

〔关键词〕 抑郁症; DRD2 基因外显子; 突变筛查

〔中图分类号〕 R 749.4 〔文献标识码〕 A

抑郁症是一种常见的精神类疾病, 情绪低落、兴趣减低、悲观厌世、思维迟缓、睡眠饮食差是抑郁症的主要临床表现, 若未予以及时有效的治疗, 患者将会做出某些极端行为, 从而造成严重的不良影响^[1-2]。通过相关调查结构的调查统计发现, 全球抑郁症的发病率高达 3.1%, 已成为全球第二大负担疾病, 因此需要采取有效的措施进行应对^[3]。为有效的明确导致抑郁症的相关因素, 本研究对抑郁症患者的 DRD2 基因外显子进行了突变筛查, 结果如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 9 月至 2020 年 9 月本院收治的 80 例抑郁症患者作为研究对象, 其中, 男 47 例, 女 33 例, 年龄 29~53 岁, 平均年龄 (41.5±4.9) 岁; 另选取同时期 80 名健康人员作为对照, 其中, 男 48 名, 女 32 名, 年龄 29~54 岁, 平均年龄 (41.9±5.1) 岁。两组研究对象的性别、年龄等一般资料比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

1.1.1 纳入标准 (1) 患者均符合国际疾病分类中关于抑郁症的临床诊断标准^[4]; (2) 患者家属对本研究知情同意。

1.1.2 排除标准 (1) 无法积极配合完成研究过程者; (2) 患有其他精神疾病者。

1.2 方法

1.2.1 制备基因组 DNA 分别抽取两组研究对象 4 mL 外周静脉血, 分别将其放置于装有抗凝剂的试管与抗凝袋中, 然后将其放置于 -20℃ 的冰箱中保存。使用 Lab-Aid 820 自动核酸提取仪与 500 μL 全血磁珠核酸提取试剂盒对 DNA 进

行提取, 使用 NanoDrop 2000 分光光度计对 DNA 浓度进行检测, 每个样本进行 2 次检测, 取平均值, 若两次误差大于 10%, 则需要对其进行第 3 次测定, 之后取平均值。将所有 DNA 样品稀释至 20 ng·μL⁻¹ 的浓度。

1.2.2 制作 DNA 混合池 将 80 例患者的 DNA 分别构建 3 个 DNA 混合池样本, 例数分别为 20 例、30 例、30 例; 将 80 名健康人员的 DNA 分别构建 2 个 DNA 混合池样本, 例数分别为 10 例与 70 例。每个研究对象均取 10 μL 20 ng 的 DNA 溶液进行混合, 以制作 DNA 混合池; 最后, 对所有 DNA 样品进行稀释, 确保其浓度为 1 ng·μL⁻¹, 用 96 孔深孔板 (2 mL) -20℃ 冻存备用。

1.2.3 DNA 模板分装 使用 APRICOT DESIGNS Personal Pipette PP-550N-XD 移液工作站将终浓度 1 ng·μL⁻¹ 的 DNA 溶液分装 5 μL, 将其分装至 96 孔聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 板。

1.2.4 引物设计与合成 利用基因组生物信息学网站 UCSC Genome Bioinformatics, 将 DRD2 基因输入其中, 选择最长的一个外显子, 利用 Exon Prime 软件, 在 Entire cDNA 进行合成。

1.2.5 PCR 反应 基因组 DNA 选取容量为 20 μL, 选择 GeneAmp PCR System 9700 扩增仪进行 PCR 反应, 具体反应条件如下: 95℃ 条件下进行 5 min 的预变性; 95℃ 条件下进行 30 s 的变性, 56~59℃ 条件下进行 2 min 的退火, 72℃ 条件下进行 30 s 的延伸, 共 50 个循环; 然后在 72℃ 条件下进行 7 min 的保温, 最后保存于 25℃ 的环境中。取其中的 15 μL, 使用高分辨率熔解曲线进行分析, 以便对 Tc 值进行确定; 将其与 5 μL 与 200 μL 的三蒸水进行

〔收稿日期〕 2020-10-29

〔作者简介〕 陈钊来, 男, 主治医师, 主要研究方向是基因突变方向。

充分混合，取 5 μL 用作低温变性共扩增聚合酶链式反应技术 (co-amplification at lower denaturation temperature-based polymerase chain reaction, COLD-PCR) 的 DNA 模板，之后再形成 20 μL 的样本容量，具体反应条件如下：95 °C 条件下进行 2 min 的预变性；95 °C 条件下进行 15 s 的变性、56 °C 条件下进行 2 min 的退火、72 °C 条件下进行 1 min 的延伸，共 10 个循环；95 °C 条件下进行 15 s 的变性、70 °C 条件下进行 2 min 变性、Tc 温度变性 10 s、56 °C 条件下进行 30 s 的退火、72 °C 条件下进行 1 min 的延伸，共 40 个循环；最后保存于 25 °C 的环境中。

1.2.6 高分辨率熔解曲线分析基因突变检测 选用高分辨率熔解曲线分析基因突变检测系统，将温度升高到 95 °C。对获得的曲线结果进行分析，若两组研究对象的

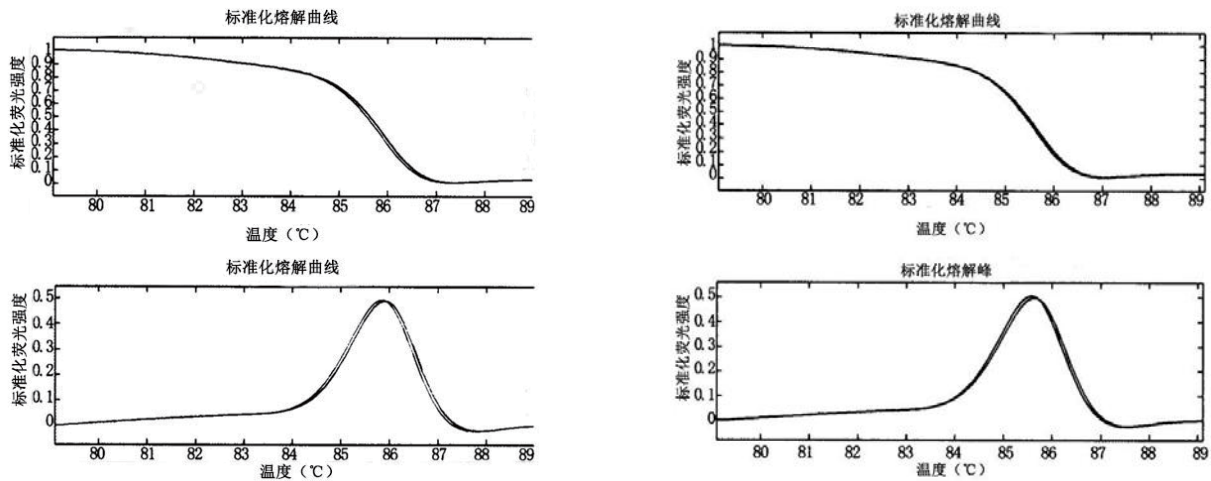
PCR 产物的 DNA 序列完全相同，则表示二者的熔解曲线的形状完全吻合；若患者的 DNA 存在突变情况，则将形成 DNA 异源杂合双链，解链温度会提前。基于上述论述，通过比较健康人员的熔解曲线，可明确患者是否存在基因突变情况。

1.3 观察指标

观察抑郁症患者与健康人员的高分辨率熔解曲线图，分析筛查结果。

2 结果

对两组研究对象的高分辨率熔解曲线图进行比较，抑郁症患者 DRD2 基因外显子与健康人员年相比，并未存在显著的突变情况，见图 1。



A: 健康人员的高分辨率熔解曲线图

B: 抑郁症患者的高分辨率熔解曲线图

图 1 两组研究对象的高分辨率熔解曲线图

3 讨论

抑郁症在临床中十分常见，将会对患者的神经系统造成较大的不良影响，及时有效的治疗成为缓解不良症状的关键。通过临床研究与观察可知，目前临床中的诸多抗抑郁的药物菌将多巴胺受体 DRD2 作为作用靶点，因此若能够对患者 DRD2 基因外显子进行有效的突变筛查，则能够对疾病的病因与发病机理进行明确阐述^[5]，原因在于外显子突变将会对基因的表达产生较大的影响，从而会对神经系统的各个方面造成不良影响，最终导致疾病的发生^[6]。因此对外显子进行突变检测将会有效的明确有助于对 DRD2 基因与抑郁症发病机理。

本研究使用 DNA 混合池技术进行筛查，通过临床实践显示^[7]，该技术能够对诸多复杂性遗传性疾病予以关联分析，将 DNA 混合池技术同 COLD-PCR 技术联合使用，能够将患者与健康人员的基因进行混合研究，在较大程度上提升了检测效率，降低了检测成本，因而具有广泛的应用范围与较高的临床应用价值。而本研究结果显示，抑郁症患者 DRD2 基因外显子并未存在显著的突变情况，提示抑郁症的病因可能并非源于 DRD2 基因外显子的突变，对日后的类似研究能够提供可靠的依据。但依然需要加强研究，并且不断提升检测能力。

[参考文献]

- (1) 刘兆云, 龙逢, 刘苗, 等. 抑郁症多巴胺受体 DRD2 基因突变检测 (J). 精神医学杂志, 2013, 26(5): 321-325.
- (2) 李玉玲, 恩和巴雅尔, 关宏岩. 多巴胺 D2 受体基因 rs4274224 多态性及家庭因素对学龄儿童节律性的影响 (J). 中国当代儿科杂志, 2016, 18(6): 501-505.
- (3) 刘向来, 黄胜, 林展, 等. 多巴胺 D2 受体基因多态性与帕利哌酮缓释片疗效的相关性 (J). 中国临床药理学杂志, 2014, 30(9): 767-769.
- (4) 吕传禄, 王侠, 曹洪欣. 国际疾病分类第 10 次修订本地化研究的思考 (J). 海军医学杂志, 2016, 37(2): 190-191.
- (5) 阎志慧, 崔丽萍, 于天霞, 等. 多巴胺受体 D2TaqIA 基因多态性与持续性姿势-知觉性头晕的相关性研究 (J). 中华神经医学杂志, 2018, 17(10): 1033-1036.
- (6) 刘亮, 程灶火, 刘晓伟, 等. 精神分裂症患者多巴胺 D2 受体和多巴胺转运体基因表达水平与临床症状的关系 (J). 中华精神科杂志, 2012, 45(3): 161-164.
- (7) 何凡, 黄环环, 梁月竹, 等. 多巴胺 D2 受体基因多态性与图雷特综合征表型的相关性分析 (J). 中国医刊, 2020, 55(7): 777-780.