基础研究 文章编号：0253-3626（2011）05-0582-04

核心家系 5- 羟色胺转运体基因启动子区多态性与自杀未遂的关联分析

艾 明，高新学，陈建梅，王 我，甘 窈，李大奇，况 利
（重庆医科大学附属第一医院心理卫生中心，重庆 400016）

【摘 要】目的：探讨 5- 羟色胺转运体（Serotonin transporter，5-HTT）基因启动子区多态性（Serotonin transporter gene-linked polymorphic region，5-HTTLPR）位点与自杀未遂之间关联系。方法：以重庆地区汉族人群中自杀未遂核心家系作为研究对象，应用聚合酶链反应技术（Polymerase chain reaction，PCR）检测 5-HTTLPR 位点多态性与自杀未遂之间的分子遗传学联系进行了以家系为基础的基于单体型的单体型相对风险（Haplotype based haplotype relative risk，HHRR）分析及连锁不平衡（Transmission disequilibrium test，TDT）分析。结果：86 个核心家系 258 个家系成员的 5-HTTLPR 基因型和基因频率在患者组与父母组间比较（χ^2=0.088，P=0.767；χ^2=2.670，P=0.263）无显著性差异。HHRR 分析结果显示自杀未遂患者组与虚拟对照组之间的 5-HTTLPR（χ^2=0.26，P>0.05）基因频率无显著性差异。多等位基因 TDT 统计分析 5-HTTLPR 与自杀未遂间未发现存在连锁不平衡（χ^2=2.67，P>0.05）。在 57 个有精神病自杀未遂核心家系中有 47 个杂合子父母纳入 5-HTTLPR 位点的分析，其中有 25 个 S 等位基因传给了患病子女，有 12 个 L 等位基因传递给了患病子女（χ^2=4.57，P<0.05）。结论：汉族人群中 5-HTTLPR 多态性位点与有精神病自杀未遂者间存在连锁不平衡。

【关键词】自杀未遂；基因；多态现象（遗传学）；5- 羟色胺转运体；传递不平衡检验
【中国图书分类法分类号】R195.1 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-01-09

An analysis on relationship between polymorphism of serotonin transporter gene-linked polymorphic region and attempted suicide in center families

AI Ming，GAO Xin-xue，CHEN Jian-mei，WANG Wo，GAN Qao，LI Da-qi，KUANG Li
（*Center of Mental Health，the First Affiliated Hospital，Chongqing Medical University*）

【Abstract】*Objective*：To explore the association between attempted suicide and polymorphism of serotonin transporter gene-linked polymorphic region（5-HTTLPR）. *Methods*：Suicide attempts core families were recruited from the Han population in Chongqing. Using the technique of polymerase chain reaction（PCR）and restriction fragment length polymorphism techniques. A family-based link-age relative risk based on haplotype and disequilibrium analysis were conducted. *Results*：No significant difference of genotypic frequence of 5-HTT gene polymorphism in the promoter region（5-HTTLPR）between the patients and the parents from 258 family members of 86 core families（χ^2=0.088，P=0.767；χ^2=2.670，P=0.263）. the HHRR（χ^2=0.26，P>0.05）and the TDT（χ^2=2.67，P>0.05）of multiple allele did not show association between polymorphism of 5-HTTLPR and attempted suicide. There were 47 heterozygous parents of 5-HTTLPR in 57 psychiatric suicide attempts core families，25 S alleles and 12 L alleles of which transmitted to the suffered children（χ^2=4.57，

作者介绍：艾 明（1981-），男，助教，硕士，
研究方向：自杀的生物学病因及危机干预。
通信作者：况 利，女，教授，Email：kuangLi0308@163.com。
基金项目：重庆市卫生局医学科研计划资助项目（编号：07-2-049）。

injury-induced repulsive guidance molecule expression in the adult human brain[J].Arch Neurol，2005，62（10）：1561-1568.

[7] Ghiani C A，Ying Z，Vellis J D.Exercise decreases myelin-associated glycoprotein expression in the spinal cord and positively modulates neuronal growth[J].Glia，2007，55（9）：966-975.

[8] Chytrova G，Ying Z.Exercise normalizes levels of MAG and Nogo-A growth inhibitors after brain trauma[J].European Journal of Neuroscience，2008，27（1）：1-11.

[9] Doyle L M.Exercise enhances axonal growth and functional recovery in the regenerating spinal cord[J].Neuroscience，2006，141（1）：321-327.

[10] Goldshmit Y，Lythgo N，Galea M P，et al.Treadmill Training after spinal cord hemisection in mice promotes axonal sprouting and synapse formation and improves motor recovery[J].Journal of Neurotrauma，2008，25（5）：449-466.

[11] 徐丽丽，白玉龙，胡永善，等.运动训练改善脑缺血大鼠梗死体积与神经行为能力的实验研究[J].中国康复医学杂志，2008，23（2）：100-102.

（责任编辑：张学颖）

$P<0.05$）. *Conclusion*: It is association between polymorphism of 5-HTTLPR and attempted suicide with psychiatric diseases in the Han people.

【Key words】attempted suicide; genes; polymorphism（genetics）; serotonin transporter（5-HTT）; transmission/disequilibrium test

我国每年至少有 200 万人自杀未遂[1]，而在 15~34 岁人群中，自杀是第二位死因[2]，自杀及自杀未遂在我国均已成为严重公共卫生问题。自杀未遂者和自杀死亡者的 5- 羟色胺功能下降，为自杀的分子遗传学研究提供了依据。因此，近年来 5- 羟色胺转运体（Serotonin transporter，5-HTT）已成为自杀未遂病因学研究的新方向。目前国外对 5-HTT 的基因学研究较多，但结果存在的分歧，这些基因与自杀的关系还很不明确。国内较少相关的文献报告，本课题组对重庆地区自杀未遂与正常对照的研究中也未发现 5-HTT 基因启动驱多态性（Serotonin transporter gene-linked polymorphic region，5-HTTLPR）基因型及等位基因频率与自杀未遂有关联，但发现 5-HTTLPR 的 S 等位基因和精神病自杀未遂存在关联[3]。报告显示自杀性家族史是自杀行为的明显特征。另有研究显示比较有无自杀行为的精神障碍患者，发现其中自杀未遂患者的亲属中有自杀行为现象比较普遍，自杀行为的风险与遗传因素及家族倾向有关。由于不同的种群的基因可能存在不同，因此，本研究进行了汉族人群自杀未遂与 5-HTTLPR 的相关性研究及核心家系的传递不平衡分析，旨在探讨 5-HTT 基因与自杀未遂的关系，尤其是在家族中是否存有传递相关性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

研究对象来自 2007 年 1 月至 2008 年 3 月，在重庆医科大学附属第一医院心理卫生中心住院部、急诊科就诊的汉族自杀未遂者及其生物学父母。纳入标准：(1)年龄≥15 岁；(2)中国汉族人群；(3)有自杀未遂行为；(4)患者之间均无血缘关系；(5)自愿参加本研究，并签署书面知情同意书。(6)有精神病自杀未遂者指患有精神分裂症，情感性精神病以及其他精神疾病。自杀未遂定义主动结束自己的生命未造成死亡的结局，包括决心自杀但未死亡和自杀意图不强而蓄意自伤[4]。采用美国国立精神卫生研究所分子遗传学的研究家庭问卷（Family interview for genetic studies，FIGS）自编家系调查表（包括社会人口学资料、疾病发作特点、家族史及个人史、既往治疗情况等）并结合测量工具[如：北京回龙观医院北京心理危机研究及干预中心设计的自杀态度及心理健康调查量表、肖水源自杀意念调查表及 DSM-IV-TR 轴Ⅰ障碍临床定式检查（SCID-I/P）[5]进行检查（由 2 名经过严格评定操作培训的高年资精神科医师评定，Kappa=0.79，$P<0.01$），以达到表型一致。所有研究对象均为中国汉族人，患者及其父母对本研究知情并同意参加。共收集 86 个核心家系共 258 人。其成员分成 2 组：患者组 86 例，其中男性 38 例，女性 48 例；年龄 16~45 岁，平均（32.6±11.8）岁，父母组 172 例，父母各 86 例。

1.2 研究方法

1.2.1 基因组 DNA 的制备 采集研究对象肘静脉血 5 ml，0.2%EDTA 抗凝剂抗凝，常规酚 - 氯仿法抽提基因组 DNA。

1.2.2 引物 5-HTTLPR 多态性位点引物来自文献报告[6]。上游引物：5'-GTC GTT GCC GCT CTG AAT GC- 3'，下游引物：5'-GAG GGA CTG AGC TGG ACA ACC AC- 3'，由上海生物工程技术有限公司合成。PCR 扩增试剂盒亦由上海生物工程技术有限公司提供。

1.2.3 PCR 反应 PCR 反应液共 50 μl，含有 50~100 ng 基因组 DNA，10 pmol 引物，1 U TaTaRa Ex Taq 酶，10×ExTaq Buffer（Mg^{2+}Free）缓冲液，2.5 mmol/L dNTPs，1.5 mmol/L $MgCl_2$，双蒸水补充至 50 μl。PCR 反应条件：95℃4 min 预变性，继以 94℃变性 30 s，35 个循环，56℃退火 30 s；72℃延伸 1 min；72℃延伸 10 min。将 PCR 产物于 2% 琼脂糖凝胶中电泳分离，以溴乙锭染色法检视各区带，与分子量标准物比较各片段的大小。

1.3 统计学处理

遗传学资料采用 Spielman RS 编写的传递不平衡检验[7]（Transmission disequilibrium test，TDT）原理，运用软件 GENEHUNTER2.1 进行统计分析，一般资料运用 SPSS13.0 统计分析软件包进行分析，基于单体型的单体型相对风险分析（Haplotype based haplotype relative risk，HHRR）分析采用 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡的吻合度检验

将 86 个核心家系中的父母组和患者组的基因分型后，其基因型的观察值和期望值 Hardy-Weinberg 平衡吻合度良好：5-HTTLPR 位点父母组（$\chi^2=2.496$，$P=0.114$）；患者组（$\chi^2=1.275$，$P=0.259$）。全部样本基因型检验均为期望值 $P>0.05$，无显著性差异。符合 Hardy-Weinberg 平衡法则。

2.2 5-HTTLPR 多态性位点基因型分布和等位基因频率（表 1）

5-HTTLPR 多态性位点父母组和患者组基因型和等位基因频率的总体分布差异均无显著性（$\chi^2=0.088$，$P=0.767$；$\chi^2=2.670$，$P=0.263$）。

2.3 5-HTTLPR 位点 HHRR 分析

用“基于单体型的单体型相对风险分析”HHRR 关联法，对 86 个家系进行分析：将患者父母的 4 个等位基因划分为两组，传递给患病子女的的两个等位基因构成为病例组，即患者的基因型；未传给子女的两个等位基因构成了“对照组”（虚拟个体）基因型，然后计算病例组和对照组的基因频率，进行

表 1 5-HTTLPR 患者组及父母组基因型及等位基因频率分布（%）

组别	例数	基因型（频率）			等位基因（频率）	
		L/L	L/S	S/S	L	S
患者组	86	6（7.0）	26（30.2）	54（62.8）	38（22.1）	134（77.9）
父母组	172	13（7.6）	54（31.4）	105（61.0）	80（23.3）	264（76.7）

差异显著性检验，并计算相对风险。根据表 2 患者组 5-HTTLPR 位点等位基因的传递情况，按 $\chi^2=2\ N(W*Z-X*Y)2/(W+X)(W+Y)(X+Z)(Y+Z)$ 计算，结果显示自杀未遂患者组与虚拟对照组之间的5-HTTLPR 位点基因频率差异无统计学意义（$\chi^2=0.26$，$P>0.05$）。

2.4 5-HTTLPR 位点的 TDT 分析

根据父母基因型在患病子女中的传递情况，在 86 个家系中进行 TDT[14,15]分析。5-HTTLPR 位点的多基因 TDT 统计结果见表 3，由表 3 中可见在收集的 86 个家系中共有 54 个杂合子分母纳入分析，他们分别传递了 33 个 S 等位基因和21 个 L 等位基因给患病子女。按 $\chi^2=(b-c)2/(b+c)$ 计算和经Monte Carlo 逼真法 1 000 次重复校正后的经验 P 值，显示 5-HTTLPR 位点与自杀未遂之间不存在连锁不平衡（$\chi^2=2.67$，$P>0.05$）。

2.5 有精神病性自杀未遂者 5-HTTLPR 位点的 TDT 分析

由表 4 中可见，在 57 个有精神病自杀未遂核心家系中有 47 个杂合子父母纳入 5-HTTLPR 位点的分析，其中有 25 个 S 等位基因传给了患病子女，有 12 个 L 等位基因传递给了患病子女（$\chi^2=4.57$，$P<0.05$）。提示 5-HTTLPR 多态性位点与有精神病自杀未遂者间存在连锁不平衡。

表 2 5-HTTLPR 位点的 HHRR 分析

是否传递	易感基因型		合计
	S	L	
传递	134（W）	38（X）	172
不传递	130（Y）	42（Z）	172
合计	264（N）	80（N）	344

表 3 5-HTTLPR 位点的 TDT 分析

等位基因	传递	不传递	χ^2
S	33（b）	21（c）	2.67
L	21（c）	33（b）	

表 4 有精神病性自杀未遂者 5-HTTLPR 位点的 TDT 分析

等位基因	传递	不传递	χ^2
S	25（b）	12（c）	4.57*
L	12（c）	25（b）	

注：*，代表 $P<0.05$

3 讨 论

近年来，许多学者探讨了 5-HTT 基因与自杀的关系，5-HTT 可能是自杀的一个生物学基础[8]，Anguelova 等[9]提出 5-HTT 在自杀中可能起着自杀易患病体质的角色。1994 年Lesch 等克隆了 5-HTT 基因，人类 5-HTT 基因定位于 17q11.1-q12（基因标志是 SLC6A4）与 D17S98 紧密相邻[10]，跨度 37.8 kb，由 14 个外显子组成，编码约 630 个氨基酸组成的蛋白，目前共发现 5-HTT 有 3 种多态性。启动子区多态性 5-HTTLPR，为人类和灵长类所特有，在人类情绪调节方面有非常重要的作用，它影响转录活性和 5-HTT 的功能[11]。目前研究结果显示不同的人群基因型分布不同，我们的研究结果显示，来自重庆地区的汉族人群中，我们通过 PCR 技术在 5-HTTLPR 位点仅仅扩增出两个等位基因 “L” 和 “S”，组成 LL、LS、SS3 种基因型。528 bp 片段为 “L”，484 bp 片段为 “S”。对于文献[12]报道的 L+（528+bp）等位基因我们在本研究中没有发现，可能与取样来源不同有关。L/L 基因型占 7.0%，L/S 基因型占 30.2%，S/S 基因型占 62.8%，L 等位基因频率为 22.1%，S 等位基因型频率为 77.9%，与艾明等[3]报道的基本一致。可见此位点的多态性可能存在明显的种族和地域差异。

本研究显示 5-HTTLPR 位点基因型和基因频率患者组和父母对照组间均无明显差异，与国内的研究相一致[3]。这说明 5-HTT 基因多态性可能与人种及地域的差别有关，仍需更大样本量多地区的研究以得出中国人 5-HTT 基因多态性分布状况。进一步证明其基因型和基因频率的差异是否与自杀未遂有关联。

本研究采用核心家系作为研究对象，避免了因遗传背景不同而对研究结果的影响。所有家系都来自重庆地区，人口流动性相对较小，具有较好的遗传同质性。本研究中，HHRR 检验结果显示自杀未遂患者组与虚拟对照组之间的 5-HTTLPR 位点缺乏关联性。TDT 检验也提示 5-HTTLPR 位点与自杀未遂患者不存在连锁不平衡。

艾明等[3]对重庆地区自杀未遂与正常对照的研究中也未发现 5-HTTLPR 基因型及等位基因频率与自杀未遂有关联。但发现 5-HTTLPR 的 S 等位基因和精神病自杀未遂存在关联。本研究在 89 个核心家系中筛选出 57 个有精神病自杀未遂家系进行 5-HTT 基因两个多态性位点的连锁不平衡分析发现，5-HTTLPR 多态性位点与有精神病自杀未遂者间存在连锁不平衡，说明 5-HTTLPR 多态性在有精神病自杀未遂者的传递过程中起到一定作用。Lesch 等报道人工培养的成淋巴细胞 5-HTT 基因的 L 等位基因的表达使 5-HT 回吸收增高两倍，L 等位基因与抑郁症自杀相关联。Joiner 等[13]发现 5-HTT 基因等位基因纯合子（SS）与自杀家族史有关联。最近 Bayle 等[14]研究发现暴力引起的自杀未遂与非暴力引起的自杀未遂相比，携带基因型 “短” 等位基因的患者显著增多。由于遗传因素改变 5-HTT 的表达可能更多地与剧烈的或暴力的自杀行为有关联[15]。Chong 等报道 5-HTTLPR 多态性的基因型或等位基因与自杀企图史的关联无意义[16]。Pinto 等研

究未发现 5-HTT 与双相情感障碍的自杀存在关联性，而 Neves 等研究发现 5-HTT 基因的 S 等位基因与不伴有双相情感障碍的自杀有关联[17]。Neurosci 等研究证实 5-HTTLPR与抑郁症患者的自杀无明确的关联性[18]。Akar 等用连锁不平衡方法分析携带 5-HTTLPR 的 S10 及 L12 等位基因土耳其人自杀风险增高[19]。但我们自己的研究结果也提示，5-HTT基因与自杀未遂间不存在连锁不平衡分析。报道显示自杀性家族史是自杀行为的明显特征，并且这种家族的攻击性要明显高于相比较对象的一级亲属，是构成自杀倾向的一部分，并在家族中被不断地继承下来[20]。另有研究显示比较有无自杀行为的精神障碍患者，发现其中自杀未遂患者的亲属中有自杀行为现象比较普遍，自杀行为的风险与遗传因素及家族倾向有关[21]。

总之，本研究采用以家系为基础的对照研究方法，较好的解决了患者组与父母组的配对问题，排除了遗传背景的不一致性，避免出现假阳性结果及群体结构分层的现象。我们研究的结果认为，汉族人群中 5-HTTLPR 多态性位点与自杀未遂者间无明显关联性，但与有精神病自杀未遂者间存在连锁不平衡。但由于本研究的样本量相对较少，地域的选择仅限于重庆地区。因此需要更大样本或在更多地区采集样本采取更新的方法如单核苷酸多态性，并结合神经生理测验、单光子发射计算体成摄影等手段进行深入的、多中心的研究。进一步验证基因多态性在自杀未遂的病因中所扮演的角色。将分子遗传学、临床特征及社会心理因素等结合心理测试量表将有助于我们更好的研究自杀行为的病因、遗传方式及自杀的危机干预。

参 考 文 献

[1] Phillips M R, Li X Y, Zhang Y P, et al. Suicide rates in China, 1995~1999[J]. Lancet, 2002, 359(9309): 835-840.

[2] Wang S Y, Li Y H, Chi G B, et al. Injury-related fatalities in China: an under-recognized public-health problem[J]. Lancet, 2008, 372(9651): 1765-1773.

[3] 艾 明，况 利，李大奇，等. 5-羟色胺转运体基因多态性与自杀未遂的相关研究[J]. 中国神经精神疾病杂志，2007，33(11)：685-686.

[4] 李献云，费立鹏，王玉萍，等. 冲动性与非冲动性自杀未遂的比较[J]. 中国神经精神疾病杂志，2003，29(1)：27-31.

[5] 李 涛，周茹英，胡峻梅，等译. DSM-Ⅳ-TR 轴Ⅰ障碍定式临床检查病人版（SCID-I/P）[M]. 成都：四川大学华西医院心理卫生研究所，2004.1-219.

[6] Glatz K, Mossner R, Heils A, et al. Glucocorticoid-regulated human serotonin transporter (5-HTT) expression is modulated by the 5-HTT gene-promotor-linked polymorphic region[J]. Neurochem, 2003, 86(5): 1072-1078.

[7] Spielman R S, McGinnis R E, Ewens W J, et al. Transmission tests for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent siabetes mellitus (IDDM) [J]. American Journal of Human Genetics, 1993, 52(3): 506-516.

[8] Purselle D C, Nemerof C B. Serotonin transporter: a potential substrate in the biology of suicide[J]. Neuropsychopharmacology, 2003, 28(4): 613-619.

[9] Anguelova M, Benkelfat C, Turecki G, et al. A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: Ⅱ. Suicidal behavior[J]. Mol Psychiatry, 2003, 8(7): 646-653.

[10] Ramamoorthy S, Bauman A L, Moore K R, et al. Antidepressant and cocaine sensitive human serotonin transporter[J]. Molecular cloning, 1993, 90(6): 2542-2546.

[11] Kirov G, Rees M, Jones I, et al. Bipolar disorder and the serotonin transporter gene: a family based association study[J]. PsycholMed, 1999, 29(5): 1249-1254.

[12] 唐牟尼，李 涛，刘协和，等. 载脂蛋白 E、5-羟色胺转运体基因多态性与阿尔海默病的关联分析[J]. 中华精神科杂志，2002，33(3)：145-148.

[13] Joiner T E. Association between serotonin transporter gene polymorphism and family history of attempted and completed suicide[J]. Suicide Life Threat Behav, 2002, 32(3): 329-332.

[14] Bayle F J, Leroy S, Gourion D, et al. 5-HTTLPR polymorphism in schizophrenic patients: further support for association with violent suicide attempts[J]. Am J Med Genet, 2003, 119(1): 13-17.

[15] Courtet P, Buresi C, Abbar M, et al. No association between nonviolent suicidal behavior and the serotonin transporter promoter polymorphism[J]. Am J Med Genet, 2003, 116B(1): 72-76.

[16] Chong S A, Lee W L, Tan C H, et al. Atempted suicide and polymorphism of the serotonin transporter gene in Chinese patients with schizophrenia[J]. Psychiatry Res, 2000, 97(2-3): 101-106.

[17] Neves F S, Silveira G, Romano-Silva M A, et al. Is the 5-HTTLPR polymorphism associated with bipolar disorder or with suicidal behavior of bipolar disorder patients[J]? Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2008, 147B(1): 114-116.

[18] Segal J, Schenkel L C, Oliveira M H, et al. Novel allelic variants in the human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) among depressed patients with suicide attempt[J]. Neurosci Lett, 2009, 451(1): 79-82.

[19] Akar T, Sayin A, Bakkaloglu Z, et al. Investigation of serotonin transporter gene promoter (5-HTTLPR) and intron 2 (variable number of tandem repeats) polymorphisms with suicidal behavior in a Turkish population[J]. DNA Cell Biol, 2010, 29(8): 429-434.

[20] Mann J J, Bortinger J, Oquendo M A, et al. Family history of suicidal behavior and mood disorders in probands with mood disorders[J]. Am J Psychiatry, 2005, 162(9): 1672-1679.

[21] Kim C D, Seguin M, Therrien N, et al. Familial aggregation of suicidal behavior: a family study of male suicide completers from the general population[J]. Am J Psychiatry, 2005, 162(5): 1017-1019.

（责任编辑：关蕴良）