

糖皮质激素受体基因、工作紧张水平的交互作用与创伤后应激障碍易感性的关系

李树林^{1,2}, 王泽¹, 王茜¹

摘要: [目的] 分析创伤后应激障碍(PTSD)的主要危险因素,探讨糖皮质激素受体(GR)基因 rs17209237、rs41423247 位点与紧张水平的交互作用,为筛选 PTSD 敏感人群提供依据。[方法] 采用病例对照研究方法,以新疆某三甲医院确诊治疗的 PTSD 患者(60 例)作为病例组,以同期经三甲医院确诊遭受过创伤性事件,但没有发展为 PTSD 的 120 例为对照组,进行量表调查(工作紧张测量问卷)和血样采集(知情同意,早晨空腹采集静脉血样 5 mL),用于分析 GR 基因与紧张水平的交互作用。[结果] 工作紧张中,子项工作紧张强度病例组高于对照组($P<0.05$),OR 值为 6.122;工作压力在病例组和对照组差异有统计学意义,病例组的工作压力高于对照组($P<0.05$),OR 值为 10.543。GR 基因 rs41423247 位点 C/G 基因型的频率分布病例组高于对照组($P<0.05$),C 等位基因携带者 GC 可能是 PTSD 的危险因素($OR=2.14$, 95%CI: 1.10~4.16)。GR 基因 rs41423247 位点突变型与工作压力正相乘交互作用($P<0.05$),OR 值为 3.256。[结论] 工作紧张强度和工作压力大者 PTSD 的患病风险高。GR 基因 rs41423247 位点 C 等位基因携带者 GC PTSD 发病风险高。GR 基因是 PTSD 的遗传易感基因,GR 基因 rs41423247 位点与工作压力共同作用可能增加 PTSD 的患病风险。

关键词: 糖皮质激素受体基因;紧张水平;创伤后应激障碍;病例对照研究

Association Between Interaction of Glucocorticoid Receptor Genes and Work Stress Levels and Susceptibility of Post-Traumatic Stress Disorder LI Shu-lin^{1,2}, WANG Ze¹, WANG Qian¹ (1.School of Public Health, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 2.Urumqi Emergency Medical Center, Urumqi, Xinjiang 830000, China). Address correspondence to WANG Qian, E-mail: 115128726@qq.com · The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: [Objective] To examine the major risk factors of post-traumatic stress disorder (PTSD), assess the interaction of glucocorticoid receptor (GR) gene rs17209237 and rs41423247 and work stress levels, and provide evidence for screening sensitive populations of PTSD. [Methods] The study adopted a case-control design. Patients from tertiary grade A hospitals in Xinjiang diagnosed with PTSD ($n=60$) were enrolled as the case group, and those who suffered a traumatic event diagnosed in the same period but did not develop to PTSD ($n=120$) were enrolled as the control group. They were investigated with Job Stress Survey (JSS) and gave informed consent to collect morning fasting venous blood samples (5 mL). GR gene-stress interaction was assessed. [Results] Job stress intensity in the case group was higher than that in the control group ($P<0.05$) ($OR=6.122$), so was the job pressure ($P<0.05$) ($OR=10.543$). The frequency of GR gene rs41423247 C/G genotype in the case group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and C allele carrier (GC) was a risk factor for PTSD ($OR=2.14$, 95%CI: 1.10-4.16). There was a positive multiplication interaction between GR gene rs41423247 mutant type and job pressure ($P<0.05$) ($OR=3.256$). [Conclusion] Job stress intensity and job pressure increase the possibility of suffering from PTSD. GR gene rs41423247 locus C allele (GC) increases the possibility of suffering from PTSD. GR gene is a genetic risk factor for PTSD, and the joint action of GR gene rs41423247 and job pressure increases the risk of PTSD.

Key Words: glucocorticoid receptor gene; stress level; post-traumatic stress disorder; case-control study

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2016.15708

[基金项目] 国家自然科学基金(编号: 30800906)

[作者简介] 李树林(1976—),男,硕士,副主任医师;研究方向:院前急救、疾病预防与控制;E-mail: 507693589@qq.com

[通信作者] 王茜, E-mail: 115128726@qq.com

[作者单位] 1. 新疆医科大学公共卫生学院,新疆 乌鲁木齐 830000;
2. 乌鲁木齐市急救中心,新疆 乌鲁木齐 830000

创伤后应激障碍(post-traumatic stress disorder, PTSD)是指经历、目睹或遭遇创伤事件,所导致个体延迟出现和持续存在的精神障碍。随着现代社会交通伤亡、暴力事件等社会应激事件的增多和自然灾害的发生,由个体经历创伤事件所带来的心理创伤和应激障碍已引起心理与精神卫生领域的广泛关注^[1]。

根据双生子研究, PTSD发病有30%~40%归因于遗传因素^[2-3]。糖皮质激素是下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴兴奋的终端产物, 有研究表明PTSD患者存在HPA轴的功能紊乱, 其血中糖皮质激素水平异常低下^[4]。由于糖皮质激素必须通过与其受体结合来发挥生理作用, 糖皮质激素受体(GR)作为糖皮质激素的主要受体之一, 在应激反应中的作用尤其重要。本课题基于GR基因相关位点探讨其与紧张水平的交互作用, 以期研究GR基因与PTSD发病的关联, 从而分析其主要危险因素, 为筛选敏感人群提供依据。

1 对象与方法

1.1 病例组

病例组为新疆某三甲医院确诊治疗的60例PTSD患者, 年龄(38.32 ± 8.47)岁, 其中汉族45例、维吾尔族15例。纳入标准: (1)按照美国《诊断与统计手册: 精神障碍》(第四版修订本)中诊断标准^[5]确诊为PTSD的患者; (2)未合并有其他精神障碍疾病、器质性病变者; (3)调查人员向其解释调查目的之后, 愿意配合填写调查表、采集血样者。

1.2 对照组

按照随机抽样的方法, 抽取同期该三甲医院120例非PTSD患者作为对照组(年龄相差 ± 5 岁, 民族构成、性别构成与病例组一致), 年龄(38.03 ± 8.81)岁, 其中汉族90例、维吾尔族30例。纳入标准: (1)曾经遭受过创伤性事件但没有发展为PTSD者; (2)无器质性病变、精神疾病以及遗传病史者; (3)近1周内没有服用三环类抗抑郁药、地塞米松、雌激素、糖皮质激素类药物者; (4)调查人员向其解释调查目的之后, 愿意配合填写调查表、采集血样者。

1.3 量表调查

1.3.1 一般人口学资料 调查一般人口学资料(包括姓名、年龄、性别等), 进行个体特征测定。

1.3.2 工作紧张水平测定 采用工作紧张测量问卷测定。该问卷由60个条目组成, 通过工作紧张指数、工作紧张强度和工作紧张频度总体衡量职业紧张的大小、强度和持续时间。其下包括工作压力问卷和组织支持缺乏问卷。得分越高说明紧张水平越强。国内由连玉龙首次引进开发, 并进行信度效度验证, 信度在0.88~0.96之间^[6]。量表或指数得分超过90%正常参考值范围上限定义为“异常”, 其他定义为“正常”。

1.4 DNA提取

采集早晨空腹静脉血样5 mL, 装入EDTA抗凝的真空采血管内静置, 置冰盒中, 由专业人员统一运回实验室, 离心分离血浆, 剩余血样置-20℃冰箱保存。采用全血基因组DNA快速提取试剂盒(溶液型, 北京百泰克生物公司)提取基因组DNA。

1.5 GR基因型的测定

采用Snapshot多重单碱基延伸反应检测基因型。PCR引物用在线工具Primer3软件设计(http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi)。rs41423247位点引物, 上游: TTGCACCATGTTGACACCAATTC; 下游: TGCAGTGAACAGTGTACCAGACCA; 引物长度: 106 bp。rs17209237引物, 上游: ACCCTGCCGACCTTTCTATTC; 下游: CCTGGTGCCAAAGACCTGAAGA; 引物长度: 248 bp。PCR产物用HotStarTaq(QIAGEN, 德国)进行多重PCR获得。引物合成委托给上海生工。PCR反应体系为, (1)Snapshot多重单碱基延伸反应, ①延伸引物; ②延伸反应体系(10 μ L): 包括5 μ L SNaPshot Multiplex Kit(ABI, 美国), 2 μ L纯化后多重PCR产物, 1 μ L延伸引物混合物, 2 μ L超纯水; ③PCR循环程序: 96℃ 1 min, 28 $\times$ (96℃ 10 s, 50℃ 5 s, 60℃ 30 s), 60℃ 1 min, 4℃终止。(2)延伸产物纯化, 在10 μ L延伸产物中加入1U虾碱性磷酸酶, 37℃温浴1 h, 然后75℃灭活15 min。(3)延伸产物上3130XL测序仪(ABI, 美国), 取0.5 μ L纯化后的延伸产物, 与0.5 μ L GeneScan™ 120LIZ®Size Standard(ABI, 美国), 9 μ L甲酰胺(ABI, 美国)混匀, 95℃变性5 min后上3130XL测序仪。(4)3130XL测序仪上收集的原始数据, 用GeneMapper 4.0(Applied Biosystems Co, Ltd, 美国)来分析。

1.6 质量控制

所有研究对象均知情同意。由统一培训的调查人员进行调查。调查问卷集中填写, 当场交卷, 问卷收回后及时复核, 采用双人双录入的方法将数据录入EpiData 3.1。

1.7 统计学分析

采用SPSS 17.0软件进行统计学处理。病例组与对照组的比较, 采用两组比较的卡方检验; 用单变量和多变量logistic回归分析计算OR和95%CI, 表示各多态性位点变异基因型与野生纯合型比较相对风险度; 对于影响PTSD发病的社会心理因素(工作紧张)与基因交互作用(相乘模型)采用非条件logistic回归分析。

2 结果

2.1 一般情况

两组研究对象年龄、性别、民族差异均无统计学意义($P>0.05$), 两组均衡可比。见表1。

2.2 工作紧张水平

由表2可见, 病例组工作紧张强度、工作压力问卷得分均高于对照组($OR=6.122$, $P<0.01$; $OR=10.543$, $P<0.01$)。

2.3 GR 基因 SNPs 基因型分布

GR 基因2个位点基因型频率在对照组的分布均符

合Hardy-Weinberg平衡, P 值均大于0.05, 说明对照组具有人群代表性。表3可见, GR 基因rs41423247位点CG基因型的频率分布病例组高于对照组($P=0.04$), 与野生型GG相比, C等位基因携带者CG基因型可能增加PTSD发病风险($OR=2.14$, 95%CI: 1.10~4.16)。rs17209237基因频率分布在病例组、对照组差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.4 基因-紧张水平的交互作用

从表4可见, GR 基因rs41423247位点与工作压力有正相乘交互作用($OR=3.256$, $P<0.05$)。

表1 病例组和对照组的基本情况比较

项目	病例组($n=60$)		对照组($n=120$)		χ^2	P	OR	95%CI
	n	%	n	%				
年龄(岁)								
20~	8	13.3	25	20.8	1.559	0.212	0.464	0.139~1.549
30~	25	41.7	41	34.2	0.134	0.714	1.176	0.493~2.805
40~	27	45.0	54	45.0	—	—	—	—
性别								
男	19	31.7	38	31.7	0.000	1.000	1.000	0.397~2.519
女	41	68.3	82	68.3	—	—	—	—
民族								
汉族	45	75.0	90	75.0	0.000	1.000	—	0.375~2.664
少数民族	15	25.0	30	25.0	—	—	—	—

表2 病例组和对照组工作紧张反应的比较

项目	得分类型	病例组($n=60$)		对照组($n=120$)		χ^2	P	OR	95%CI
		n	%	n	%				
工作紧张测量问卷	正常	56	93.3	112	93.3	1.193	0.275	121.944	0.220~77.500
	异常	4	6.7	8	6.7				
工作紧张强度	正常	49	81.7	113	94.2	7.558	0.006	6.122	1.682~22.282
	异常	11	18.3	7	5.8				
工作压力问卷	正常	49	81.7	114	95.0	9.362	0.002	10.543	2.332~47.670
	异常	11	18.3	6	5.0				
组织支持缺乏问卷	正常	58	96.7	112	93.3	0.625	0.429	2.732	0.226~33.004
	异常	2	3.3	8	6.7				

表3 GR 基因 SNPs 基因型分布及其与 PTSD 风险的关系($n=180$, 调整年龄)

基因位点	基因型	病例组		对照组		OR	95%CI	P
		n	%	n	%			
rs17209237	AA	38	65.5	78	65.0	1.00	—	0.67
	GA	19	32.8	37	30.8	1.06	0.54~2.07	
	GG	1	1.7	5	4.2	0.41	0.05~3.67	
rs41423247	GG	30	51.7	79	65.8	1.00	—	0.04
	CG	26	44.8	32	26.7	2.14	1.10~4.16	
	CC	2	3.5	9	7.5	0.58	0.12~2.86	

表4 基因-紧张水平交互作用对PTSD易感性的分析

基因位点	工作紧张水平	P	OR	95%CI
rs17209237	组织支持缺乏	0.090	0.195	0.024~1.575
	工作压力	0.622	0.760	0.255~2.266
	工作紧张	0.171	0.353	0.075~1.666
rs41423247	组织支持缺乏	0.210	0.377	0.078~1.830
	工作压力	0.021	3.256	1.144~9.262
	工作紧张	0.831	1.138	0.347~3.740

3 讨论

近年来表观遗传学的概念随着研究的不断深入而逐渐发展,越来越多证据表明表观遗传因素可能是许多精神障碍的发病原因。表观遗传学的研究主要集中于不涉及DNA序列改变的DNA甲基化和染色质组蛋白修饰方面。PTSD被认为是遗传易感性与环境因素共同作用的结果^[7-9]。

本研究结果显示:当单独的紧张因素作用于机体时,如工作压力和工作紧张强度过高,会增大PTSD的风险;其次,GR基因rs41423247位点C等位基因携带者(CG)PTSD发病风险增加,此位点与工作压力有正相乘交互作用($OR=3.256, P<0.05$),提示GR基因突变型是PTSD的发病风险因素之一,且与工作压力共同作用会增大PTSD的患病风险。PTSD是见之于紧张结束后的迟发性应激反应,有学者对148例应激精神障碍患者进行分析,探讨影响其重度心理应激的遗传和社会(心理)因素,结果揭示GR基因可能是应激精神障碍的遗传易感基因^[10],与本研究结果一致。当机体感受紧张因素时,HPA轴兴奋性提高,肾上腺分泌糖皮质激素水平升高,从而动员机体储能,适应环境,但若机体长期处于过高的工作紧张和压力状态,HPA轴功能持续亢进,机体将处于长期高水平的糖皮质激素中,产生严重的生理性紧张反应,对机体十分不利。对PTSD大鼠前额叶内侧皮质神经元GR基因表达进行研究后发现,GR基因持续性高表达可能直接参与了PTSD中HPA的变化机制,并且可能与持续性情感行为障碍、认知功能受损的发生发展过程有关^[11-12],进一步证实了本研究结果的真实性。PTSD患者不同脑区中GR表达的变化使HPA轴功能调节紊乱,从而引发PTSD的相关症状。

因此,除遗传易感因素外,面对外界环境刺激,适度减少机体的紧张强度和工作压力,是预防PTSD发生的重要策略之一。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献

[1] 汪璐璐,刘安诺,李惠萍,等.创伤后成长与创伤后应激障碍症状相关性的meta分析[J].中国心理卫生杂志,2016,30(1): 23-28.

[2] Skelton K, Ressler KJ, Norrholm SD, et al. PTSD and gene variants: new pathways and new thinking[J]. Neuropharmacology, 2012, 62(2): 628-637.

[3] Plantinga L, Bremner JD, Miller AA, et al. Association between posttraumatic stress disorder and inflammation: a twin study[J]. Brain Behav Immun, 2013, 30: 125-132.

[4] 陈蓓婧,李敏.糖皮质激素与创伤后应激障碍的研究进展[J].重庆医学,2015,44(4): 534-537.

[5] 美国精神科学会.诊断与统计手册:精神障碍[M].4版.北京:人民卫生出版社,2005.

[6] 连玉龙,刘继文,张晨,等.应激相关工作分析工具6.0的信度和效度评价[J].中华劳动卫生职业病杂志,2007,25(12): 730-734.

[7] Tian YL, Liu H, Guse L, et al. Association of genetic factors and gene-environment interactions with risk of developing posttraumatic stress disorder in a case-control study[J]. Biol Res Nurs, 2015, 17(4): 364-372.

[8] Yehuda R, Daskalakis NP, Desarnaud F, et al. Epigenetic biomarkers as predictors and correlates of symptom improvement following psychotherapy in combat veterans with PTSD[J]. Front Psychiatry, 2013, 4: 118.

[9] Klengel T, Binder EB. Allele-specific epigenetic modification: a molecular mechanism for gene-environment interactions in stress-related psychiatric disorders[J]. Epigenomics, 2013, 5(2): 109-112.

[10] 宁丽.社会环境与遗传交互作用对不同程度心理应激影响的研究[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2012.

[11] 张景华,李慢,石玉秀,等.创伤后应激障碍大鼠前额叶内侧皮质糖皮质激素受体表达增高[J].解剖学报,2011,42(2): 151-154.

[12] 付婧,文鹏,王艳杰,等.基于HPA轴的PTSD发病机制研究进展[J].东南大学学报(医学版),2014,33(1): 95-99.

(收稿日期:2015-12-16)

(英文编辑:汪源;编辑:王晓宇;校对:洪琪)