

抑郁症患者外周血中大麻素受体 1 和脂肪酸酰胺水解酶的 mRNA 表达水平及意义

罗江涛^a, 续蕾^b, 卜登盈^a, 常丽英^a

(襄阳市中心医院 a. 精神科, b. 神经内科, 湖北 襄阳 441000)

摘要:**目的** 探讨抑郁症患者外周血中大麻素受体 1 (CB1) 和脂肪酸酰胺水解酶 (FAAH) 的 mRNA 表达水平及意义。**方法** 选择 43 例未经治疗的抑郁症患者 (抑郁组) 和 43 例健康志愿者 (健康组), 采用实时荧光定量反转录聚合酶链式反应 (RT-PCR) 技术检测两组患者外周血中 CB1 和 FAAH 的 mRNA 表达水平, 观察抑郁症患者与健康人群的 CB1 和 FAAH 水平变化; 采用汉密尔顿抑郁量表 (HAMD) 和 Stroop 色词测试对抑郁症患者的抑郁程度和认知功能进行评估, 分析 CB1 和 FAAH 表达水平与测试结果的相关性。**结果** (1) 抑郁症患者的 CB1-mRNA、FAAH-mRNA 表达水平均明显低于健康组 ($P < 0.05$); (2) 抑郁症患者的 CB1 表达水平与 HAMD 中的体质量变化因子正相关 ($r = 1.021, P = 0.001$); FAAH 表达水平与 HAMD 中的认知障碍因子负相关 ($r = -0.065, P = 0.023$); (3) 抑郁症患者 FAAH-mRNA 表达水平影响患者的注意力和反应能力 ($P < 0.05$)。**结论** CB1 受体可以影响抑郁症患者的能量代谢, FAAH 会对抑郁症患者的认知障碍产生影响, 提示抑郁症患者外周血 CB1-mRNA、FAAH-mRNA 表达量与抑郁障碍具有相关性。

关键词: 抑郁症; 大麻素受体 1; 脂肪酸酰胺水解酶

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2017.10.011

The expression levels and significance of CB1 and FAAH mRNA in peripheral blood of depressive patients

LUO Jiangtao^a, XU Lei^b, BU Dengying^a, CHANG Liying^a

(a. Department of Psychiatry, b. Department of Neurology, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang, Hubei 441000, China)

Abstract:**Objective** To study the peripheral blood of patients with depression cannabinoid receptor 1 (CB1) and fatty acid amide hydrolase (FAAH) mRNA expression levels and significance. **Methods** The peripheral blood CB1 and FAAH mRNA expression level of two groups of patients: 43 patients with untreated depression (depression group) and 43 cases of healthy volunteers (healthy group) were detected by real-time fluorescent quantitative (rt-PCR) technology, which were compared with healthy people. Using the Hamilton depression rating scale (HAMD) and the Stroop colour word test to evaluate the degree of depression in patients with depression and cognitive function assessment, by which to analysis expression level of CB1 and FAAH and the correlation of test results. **Results** The expression levels of CB1-mRNA and FAAH-mRNA in patients with depression were significantly lower than the control group ($P < 0.05$). The changes of body weight factor in patients with depression the expression level of CB1 and HAMD in positive correlation ($r = 1.021, P = 0.001$) while cognitive impairment factor FAAH expression level and HAMD in negative correlation ($r = -0.065, P = 0.023$). The expression level of FAAH-mRNA of patients with depression can influence patient's attention and response ability ($P < 0.05$). **Conclusions** CB1 receptor can affect energy metabolism in patients with depression and FAAH will have an impact on cognitive impairment in patients with depression, which suggesting that peripheral blood CB1-mRNA, FAAH-mRNA expression in patients with depression and depressive disorder associated with positive correlation.

Key words: Depression; Cannabinoid receptor 1; Fatty acid amide hydrolase

抑郁症是一种常见的精神性疾病, 患者以长期性心情低落为临床特征^[1], 其发病机制尚未完全明确, 有研究指出与内源性大麻素有密切关系。内源性大麻素系统是由大麻素受体、内源性大麻素、大麻衍生物及相关合成酶、降解酶及前台组成的脂质信号系统, 在中枢神经系统和外周组织中均具有重要的调控作用^[2]。内源性大麻素与大麻素受体结合具有调节情绪及能量代谢等生物学效应^[3]。龚源等^[4]研究指

出, 内源性大麻素系统如受到抑制, 可导致抑郁和焦虑症状。笔者探索大麻素受体 1 (CB1) 和脂肪酸酰胺水解酶 (FAAH) 的 mRNA 表达水平, 为抑郁症的临床治疗提供了新的方向和思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择襄阳市中心医院 43 例未经治疗的抑郁症患者 (抑郁组) 和 43 例健康志愿者 (健康组)。抑郁组纳入标准: 符合《美国精神障碍诊断

与统计手册》第4版[5]抑郁的诊断标准;汉密尔顿抑郁量表(HAMD)评分 ≥ 17 分;中国汉族;年龄18~60岁;体检及实验室检查无异常;未经治疗的首发抑郁症;本人知情并同意。排除标准:合并其他精神疾病;合并心脑血管及其他躯体疾病;进行过抗抑郁药物治疗;孕妇和哺乳期妇女;体质指数 $\geq 28 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$;酗酒、吸烟史 ≥ 1 年、1个月内服用精神活性物质或镇静药物^[6]。健康组纳入标准:年龄18~60岁的中国汉族;HAMD评分 ≤ 7 分;体检各项指标合格;本人知情并同意。排除标准:心脑血管疾病及其他躯体疾病;有精神障碍史;孕妇及哺乳期妇女;体质指数 $\geq 28 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$;酗酒、吸烟史 ≥ 1 年、1个月内服用精神活性物质或镇静药物。

本研究经医院伦理委员会批准,患者或近亲属知情并签署同意书,两组的一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表1 两组一般资料比较

组别	例数	性别/例		年龄/	体质指数/	教育年限/
		男	女	(岁, $\bar{x} \pm s$)	($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$, $\bar{x} \pm s$)	(年, $\bar{x} \pm s$)
健康组	43	19	24	38.12 $\pm$ 6.34	24.82 $\pm$ 5.16	12.13 $\pm$ 2.58
抑郁组	43	21	22	37.85 $\pm$ 6.27	24.69 $\pm$ 5.11	12.37 $\pm$ 2.69
$t(\chi^2)$ 值		(0.187)		0.199	0.117	0.422
P值		0.665		0.422	0.453	0.337

1.2 方法

1.2.1 血液采集及 mRNA 表达量测定^[7-9] (1)血液样本采集:取两组研究对象清晨空腹外周血3 mL并立即置入 -80°C 环境保存。(2)总RNA标本提取:取2 mL外周血解冻后平均分装于10个EP管中,每个EP管加入600 μL 红细胞裂解液,冰上放置15 min,根据沉淀情况混匀2次,将EP管放置在 4°C 环境中,待液体达到同等温度后,离心沉淀白细胞,弃上清液,在白细胞沉淀中加入400 μL 红细胞裂解液,再次混匀并在 4°C 环境中离心沉淀白细胞,弃上清液,加入500 μL Trizol Reagent试剂(日本Takara公司生产)振荡并冰上静置10 min,加入300 μL 分析纯氯仿,混匀并离心15 min,吸取上层水相,可将2~3个EP管中的上层置于1个新的EP管中,加入同体积预冷分析纯异丙醇,混匀后 -20°C 静置30 min沉淀RNA,后升温至 4°C 离心10 min,倾倒入上层溶液加入75%乙醇液,离心5 min,倾倒乙醇溶液,吸净管口及管盖溶液,干燥5 min,加入40 U LDEPC水溶解RNA。(3)反转录试剂盒:将1 μg RNA、1 μL 反应缓冲液、DNA酶I,加无核酸高纯度水至10 μL , 37°C 孵育30 min,加入1

μL 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, 65°C 孵育10 min,加入引物混匀离心, 65°C 孵育5 min,冰上冷却离心重复冷却,采用反转录试剂盒 RevertAid First Strand eDNA Synthesis Kit#K1621, #K1622(美国Thermo Scientific公司生产)获取反应物,并立即放入 -80°C 环境保存。(4)实时荧光定量反转录聚合酶链式反应(RT-PCR):在冰上配置由FastStart Universal SYBR GreenMaster(ROX)、上游引物、下游引物及高纯度水组成的PCR反应液进行荧光定量检测。由于本研究属于相对定量研究,因此实验时采用内参消除不同批次的系统误差,本研究的mRNA表达量公式为 $\Delta\text{Ct}_{\text{目的基因}} = \text{Ct}_{\text{目的基因}} - \text{Ct}_{\text{GAPDH}}$ 。

1.2.2 心理情绪评估方法^[10] 采用HAMD对抑郁组患者的抑郁程度进行评估,该量表主要包括7大项内容:焦虑/躯体化、体质量变化、认知障碍、迟缓、睡眠障碍、绝望感、昼夜变化,每个项目评分0~4分。由医护人员通过一对一交谈的方式对患者进行测试,各项得分之和为HAMD的总分。

1.2.3 Stroop色词测试 采用3张卡片进行字色干扰测试,将红、绿、蓝、黄这4个字及其分别代表的颜色组成测试题,每张卡片包含24个字,要求抑郁组患者分三步完成测试。(1)卡片1测试,由以上4种颜色的圆点组成,要求患者尽快说出医生所指圆点的颜色;(2)卡片2测试,由以上4种颜色书写的汉字组成,要求患者尽快说出医生所指汉字的颜色;(3)卡片3测试,将红、绿、蓝、黄这4个汉字用与之不同的颜色书写,要求患者尽快说出汉字的颜色。计算患者的正确率、错误率及反应时间。

1.3 统计学方法 采用SPSS21.0统计软件对数据进行分析,计数资料采用百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料选用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,相关性采用Pearson检验及线性回归分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 CB1-mRNA、FAAH-mRNA 表达量及 HAMD 评分比较 抑郁组患者的CB1-mRNA表达量(0.14 ± 0.11)、FAAH-mRNA表达量(0.13 ± 0.12)均明显低于健康组(0.26 ± 0.19)、(0.18 ± 0.14) ($P < 0.05$);抑郁组患者的HAMD评分(21.86 ± 4.28)明显高于健康组的(2.67 ± 1.39)分($P < 0.05$),见表2。

2.2 抑郁组患者 HAMD 评分与 CB1-mRNA、FAAH-mRNA 的相关性 抑郁组患者的CB1-mRNA表达量与HAMD的体质量变化因子具有相关性;FAAH-mRNA与认知障碍因子具有相关性,见表3。

表 2 两组 CB1-mRNA、FAAH-mRNA 表达量
及 HAMD 评分比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	CB1-mRNA	FAAH-mRNA	HAMD 评分/分
健康组	43	0.26 ± 0.19	0.18 ± 0.14	2.67 ± 1.39
抑郁组	43	0.14 ± 0.11	0.13 ± 0.12	21.86 ± 4.28
<i>t</i> 值		3.584	0.778	27.963
<i>P</i> 值		0.000	0.040	0.000

表 3 抑郁组患者 HAMD 评分与 CB1-mRNA、
FAAH-mRNA 的相关分析(*n* = 43)

HAMD 因子	CB1-mRNA		FAAH-mRNA	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
焦虑躯体化	-0.237	0.624	-0.132	0.659
体质量变化	1.021	0.001	0.097	0.954
认知障碍	0.543	0.538	-0.065	0.023
迟缓	0.602	0.492	-0.594	0.173
睡眠障碍	0.131	0.986	0.783	0.694
绝望感	0.059	0.389	0.476	0.543
昼夜变化	0.924	0.834	0.284	0.248

2.3 抑郁组患者 Stroop 色词测试与 CB1-mRNA、FAAH-mRNA 的相关性 抑郁症患者外周血 CB1-mRNA 表达水平与 Stroop 色词测试的各项指标均无相关性(*P* > 0.05);FAAH-mRNA 表达水平与 Stroop 色词测试的正确率、错误率及反应时间均具有相关性(*P* < 0.05),见表 4。

表 4 抑郁组患者 Stroop 色词测试与 CB1-mRNA、
FAAH-mRNA 的相关分析(*n* = 43)

Stroop 色词测试	CB1-mRNA		FAAH-mRNA	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
正确率	-0.186	0.524	0.017	0.016
错误率	0.019	0.942	-0.025	0.038
反应时间	0.247	0.468	0.049	0.006

3 讨论

内源性大麻素系统是调控神经内分泌免疫的重要网络,经大量研究证实内源性大麻素系统通过调控中枢神经系统对情感、认知功能产生影响^[11]。抑郁症作为发病率日益升高的精神障碍性疾病,研究其发病机制与内源性大麻素的关系,对抑郁症的防治具有重要意义。

CB1 受体由 CNR1 基因编码,是大麻素主要受体之一,通过与大麻素类物质结合产生生物学效应,参与调节记忆、认知、情绪等^[12]。CB1 受体由于单核苷酸多态性导致 CNR1 基因表达异常,从而对内源性大麻素系统的作用和代谢产生影响^[13];本研究结果表

明抑郁症患者外周血中的 CB1-mRNA 表达量明显低于健康对照者的外周血中的 CB1-mRNA 表达量(*P* < 0.05),这提示 CB1 受体可能参与了抑郁障碍的发病机制。本研究通过对 CB1-mRNA 表达量与 HAMD 各因子的相关性分析发现,CB1-mRNA 表达量与体质量变化具有相关性。在既往研究通过对敲除 CB1 受体的小鼠研究发现,当敲除 CB1 受体后,小鼠出现拒绝进食行为导致迅速消瘦,这与本研究结果一致表明内源性大麻素参与了机体的能量代谢^[14]。

FAAH 是负责内源性大麻 N 花生四烯酸乙醇胺(AEA)及其他非大麻脂肪酸酰胺的降解的主要酶,在皮质、小脑等组织中的表达量较高^[15-16]。通过小鼠实验发现,在敲除 FAAH 的小鼠中,CB1R 介导的抗抑郁反应出现,表明 FAAH 基因缺失赋予小鼠抗抑郁和焦虑行为反应^[17]。在本研究中发现抑郁症患者 FAAH-mRNA 表达量明显低于健康组,与现有研究结果一致。同时,研究结果表明抑郁症患者的 FAAH-mRNA 表达水平与 HAMD 的认知障碍因子相关。进一步通过 Stroop 色词测试分析 FAAH 与认知功能的相关性,发现 FAAH-mRNA 表达水平与抑郁症患者测试结果的正确率、错误率及反应时间均相关,证实了 FAAH-mRNA 表达水平与抑郁症患者的认知障碍具有相关性。

综上所述,CB1 受体可以影响抑郁症患者的能量代谢,FAAH 会对抑郁症患者的认知障碍产生影响,表明内源性大麻素可能参与了抑郁症的发病机制。

参考文献

[1] 郑鸿伟,张亚莉,王灵君,等. 明尼苏达多相个性测验结果在抑郁症和焦虑症患者中个性特性差异的应用研究[J]. 安徽医药,2015,19(1):95-97.

[2] OLIVEIRA SL,PILLAT MM,CHEFFER A,et al. Functions of neurotrophins and growth factors in neurogenesis and brain repair[J]. Cytometry A,2013,83(1):76-89.

[3] MITJANS M,SERRETTI A,FABBRI C,et al. Screening genetic variability at the CNR1 gene in both major depression etiology and clinical response to citalopram treatment[J]. Psychopharmacology (Berl),2013,227(3):509-519.

[4] 龚源,荣征星,王昊,等. 内源性大麻素系统对中枢神经的调控及临床应用[J]. 中国临床药理学杂志,2013,22(6):385-391.

[5] 阎锐,姚志剑,汤浩,等. 中青年抑郁症患者静息态脑区活动与焦虑症状的关系[C]. 中华医学会第十次全国精神医学学术会议论文汇编,北京:2012.

[6] MAGNI LR,PURGATO M,GASTALDON C,et al. Fluoxetine versus other types of pharmacotherapy for depression[J]. Cochrane Database Syst Rev,2013,17(7):CD004185.

[7] 唐棣,李娜,鲍纪雪,等. 内源性大麻素 mRNA 在抑郁患者外周血中的表达及其临床意义[J]. 中华精神科杂志,2015,48(2):81-85.