

精神分裂症患者血清特征多肽及其鉴定的研究*

程 松, 郭婧澜, 丁银环, 王开正(泸州医学院附属医院检验科, 四川泸州 646000)

【摘要】 目的 验证筛选出的具有特异性的血清蛋白标志物, 为精神分裂症寻找客观的临床诊断依据。方法 利用酶联免疫吸附试验(ELISA)技术和自动酶标仪分别测出血清特征多肽在精神疾病组和健康对照组中的吸光度值, 再通过 SPSS17.0 对数据进行单因素方差分析, 以此验证血清多肽的特异性。结果 在单因素方差分析中, 神经肽 2 在精神分裂症组与健康对照组比较, 显著性水平为 0.040, 其他精神疾病对照组与健康对照组比较, 显著性水平为 0.008, 说明神经肽 2 在这两组比较中差异有统计学意义($P < 0.05$); 在独立样本本检验中, 神经肽 2 的渐近显著性水平为 0.031, 神经肽 2 在各组之间的表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 神经肽 2 在精神分裂症患者与健康人之间存在明显特异性, 对该病诊断、治疗和基因的研究具有重要意义。

【关键词】 精神分裂症; 血清特征多肽; 神经肽 2

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.01.001 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)01-0001-02

Research on characteristic polypeptide and its identification in patient with schizophrenics* CHENG Song, GUO Jing-lan, DING Yin-huan, WANG Kai-zheng (Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

【Abstract】 Objective To verify the serum protein markers with the specificity for seeking the objective clinical diagnosis basis of schizophrenia. Methods The ELISA technique and the automatic enzyme standard instrument were adopted to measure the absorbance values of serum characteristic polypeptides in the mental disease group and the health control group, then the data were performed the one-way anova by SPSS17.0 in order to verify the specificity of the serum polypeptides. Results By the one-way anova, neuropeptide-2 had the significance level of 0.040 in the comparison between the mental disease group and the healthy control group, the significance level was 0.008 in the comparison between the anxiety group and the healthy control group, which indicated that neuropeptide-2 had significant difference in the comparison of these two groups; in the more independent sample test, the neuropeptide-2 asymptotic significance level was 0.031, the expression of neuropeptides-2 had significant difference between the groups. Conclusion Neuropeptide 2 has obvious specificity between schizophrenia patients and normal people, which possesses the important significance to the diagnosis, treatment and gene research of this disease.

【Key words】 schizophrenia; serum characteristic peptides; neuropeptide-2

精神分裂症是一种精神活动与周围环境不协调的常见精神疾病^[1], 虽然做了大量研究, 该疾病的分子机制仍未阐明。目前芯片技术和蛋白质组学技术具有高通量的特点, 故可用于大规模筛选相关的基因与蛋白质^[2]。表面增强激光解析电离飞行时间质谱(SELDI-TOF-MS)技术是一项蛋白质组学技术, 国内外研究报道了该技术检测心血管疾病、肿瘤、感染、器官移植的蛋白质标志物并用于早期诊断的可行性^[3-4], 但对精神分裂症研究却未见报道。本研究前期利用该技术, 筛选出差异具有统计学意义($P < 0.05$)的血清蛋白质标志物^[5], 通过查询蛋白质数据库找出对应的血清多肽, 再利用酶联免疫吸附试验(ELISA)对其进行验证, 探索该疾病实验室诊断的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 精神分裂症组来自 2007 年 11 月至 2008 年 10 月泸州医学院附属医院精神科的住院患者, 共计 28 例, 其中男 13 例, 女 15 例; 年龄 19~48 岁, 平均(33.11±8.14)岁; 纳入标准: 符合国际疾病分类与诊断标准第 10 版(ICD-10)的精神分裂症诊断标准, 首次发病, 入院后未接受抗精神病药物

治疗, 并排除脑器质性和躯体疾病所致的精神障碍。其他精神疾病对照组为同期收治的 26 例患者, 其中, 抑郁症患者 12 例, 焦虑症患者 7 例, 颅脑外伤所致的精神障碍者 7 例; 男 14 例, 女 12 例; 年龄 19~53 岁, 平均(36.29±10.54)岁; 纳入标准: 符合中华医学会精神科分会 2001 年制定的中国精神障碍诊断与分类标准第 3 版(CCMD3)的相应精神疾病诊断标准, 入院后未接受抗抑郁治疗, 并排除精神分裂症。健康对照组为同期到该院体检的健康体检者 24 例, 其中男 12 例, 女 12 例; 年龄 21~50 岁, 平均(34.10±9.12)岁。

1.2 主要试剂与仪器 人神经肽 2(NP-2)、内皮素-3(ET-3)、胰岛素样肽 A 链(INS-A)、Glicentin 相关肽(GIP) ELISA 试剂盒均购自上海丰翔生物科技有限公司。Diatek DR-200Bs 自动酶标仪由无锡华卫德朗仪器提供。

1.3 方法

1.3.1 制备样品 从医用超低温冷冻冰箱(-80℃)中取出所选中的标本并编号, 冰上溶解后 4℃ 10 000 r/min 离心 2 min, 待用。

* 基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)重点项目(2006AA02090407)。 作者简介: 程松, 男, 硕士, 技师, 研究方向为蛋白质组学与实验诊断。

1.3.2 ELISA 检测 神经肽 2、内皮素-3、胰岛素样肽 A 链、Glicentin 相关肽的 ELISA 操作步骤参考文献[5]。采用 Di-atek DR-200Bs 自动酶标仪检测 3 组标本中人神经肽 2、内皮素-3、胰岛素样肽 A 链、Glicentin 相关肽的吸光度(OD)值。

1.4 统计学处理 对精神分裂症组、其他精神疾病对照组和健康对照组采用 SPSS17.0 软件进行单因素方差分析,首先对这 3 组样本进行方差齐性检验,然后进行方差分析和多重比

较。若有方差齐性不相等,假设总体分布未知的情况下,使用非参数检验中的多独立样本检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组标本中人神经肽 2、内皮素-3、胰岛素样肽 A 链、Glicentin 相关肽的 OD 值见表 1。

表 1 各组神经肽 2、内皮素-3、胰岛素样肽 A、Glicentin 相关肽 OD 值的比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 神经肽 2 | 内皮素-3 | 胰岛素样肽 A 链 | Glicentin 相关肽 |
|-----------|----|-------------|-------------|-------------|---------------|
| 精神分裂症组 | 28 | 1.81 ± 1.39 | 3.44 ± 1.94 | 1.44 ± 1.64 | 0.43 ± 0.29 |
| 其他精神疾病对照组 | 26 | 1.40 ± 1.29 | 2.68 ± 1.93 | 1.20 ± 1.40 | 0.34 ± 0.24 |
| 健康对照组 | 24 | 3.09 ± 3.38 | 4.74 ± 6.15 | 1.44 ± 1.16 | 0.58 ± 0.66 |

2.2 3 组标本的方差齐性检验 从表 2 可见,除 Glicentin 相关肽外,其余所有数值均大于 0.05,因此,内皮素-3、胰岛素样肽 A 链、神经肽 2 的总体方差相等,方差是齐次的。而 Glicentin 相关肽的方差是不齐次的。

表 2 精神分裂症、其他精神疾病患者和健康人多肽水平方差齐次性检验

| 检测指标 | Levene 统计量 | P |
|---------------|------------|-------|
| 内皮素-3 | 0.816 | 0.504 |
| 胰岛素样肽 A 链 | 0.245 | 0.784 |
| Glicentin 相关肽 | 5.581 | 0.005 |
| 神经肽 2 | 3.009 | 0.080 |

2.3 3 组标本多肽水平方差分析 从表 3 中可以看出神经肽 2 的方差检验 $F = 4.010$,对应的显著性为 0.022,小于显著性水平 0.05,因此认为神经肽 2 中至少有一个组与另外一个组差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 精神分裂症、其他精神疾病患者和健康人多肽水平方差分析

| 检测指标 | F | P |
|---------------|-------|-------|
| 内皮素-3 | 1.894 | 0.158 |
| 胰岛素样肽 A 链 | 0.244 | 0.784 |
| Glicentin 相关肽 | 1.978 | 0.146 |
| 神经肽 2 | 4.010 | 0.022 |

表 4 精神分裂症、其他精神疾病患者和健康人多肽水平多重比较表(P 值)

| 检测指标 | 精神分裂症组 VS | 精神分裂症组 | 其他精神疾病对照组 |
|---------------|-----------|----------|-----------|
| | 其他精神疾病对照组 | VS 健康对照组 | VS 健康对照组 |
| 内皮素-3 | 0.460 | 0.220 | 0.057 |
| 胰岛素样肽 A 链 | 0.538 | 0.996 | 0.557 |
| Glicentin 相关肽 | 0.426 | 0.223 | 0.052 |
| 神经肽 2 | 0.487 | 0.040 | 0.008 |

2.4 多重比较法 用多重比较法统计精神分裂症组、其他精神疾病对照组和健康对照组的神经肽 2 在精神

分裂症组、其他精神疾病对照组与健康对照组的比较中差异均有统计学意义($P < 0.05$),认为神经肽 2 在健康人和精神分裂症患者之间存在差异表达。具体数值见表 4。

2.5 多独立样本检验 鉴于 Glicentin 相关肽的方差齐性不相等,假设总体分布未知的情况下,使用多独立样本检验多个样本是否来自于相同分布的总体。结果见表 5,从表中可见神经肽 2 的渐近显著性水平为 0.031,小于 0.05,因此,只有神经肽 2 在各组之间的表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 5 Kruskal Wallis H 检验

| 检测指标 | χ^2 | 渐近显著性 |
|---------------|----------|-------|
| 内皮素-3 | 4.802 | 0.091 |
| 胰岛素样肽 A 链 | 2.825 | 0.243 |
| Glicentin 相关肽 | 2.150 | 0.341 |
| 神经肽 2 | 6.979 | 0.031 |

3 讨论

精神分裂症影响约世界 1% 的人口,治疗这种疾病的大多数药物是针对影响单胺能传递的受体。然而,有大量的证据表明,单胺类神经递质常常释放多种类型的神经肽;并且,配体作用于相应的神经肽受体,以调节单胺能的传递。这种神经肽系统包括神经降压肽、缩胆囊素、神经肽 Y、阿片肽、速激肽和食欲素等[6]。因此,对精神分裂症神经肽的研究,有可能揭示该疾病的分子机制,并选取特定的生物标志物作为诊断的客观依据[7]。

本研究前期筛选出差异具有统计学意义($P < 0.05$)的血清蛋白质标志物。通过查询蛋白质数据库,它们对应的蛋白质名称分别是神经肽 2、内皮素-3、胰岛素样肽 A 链、Glicentin 相关肽。从表 4 可以看出,神经肽 2 在精神分裂症组 VS 健康对照组显著性水平为 0.040,其他精神疾病对照组 VS 健康对照组显著性水平为 0.008,说明神经肽 2 在这两组比较中差异有统计学意义($P < 0.05$)。而精神分裂症组 VS 其他精神疾病对照组的显著水平为 0.487,大于 0.05,故推测神经肽 2 可能与精神疾病的发生、发展有关。

众所周知,神经系统的功能是由多种神经肽共同参与调节的,精神疾病的发病机制是复杂的,血清中神经肽 2 仅仅是共同参与并调节神经系统功能的多种神经肽中的(下转第 5 页)

治疗过程中应用糖皮质激素控制脑水肿时,对 FDG 的摄取没有影响。但是,FDG-PET 也有一定的局限性,如大脑灰质对 FDG 的摄取率较高,除成胶质细胞瘤外,其他大部分的神经胶质瘤与周围灰质组织的代谢相似,难以与正常组织区分。在融合 CT 成像后就能克服这些局限性^[11]。有研究表明,MRI 具有较高的敏感度(95.8%),诊断准确度为 86%,而 FDG-PET 的特异性较好(83.3%)^[12]。而在此研究中,MRI 对脑胶质瘤复发检出敏感度为 93.55%,特异度为 18.75%;而¹⁸F-FDG-PET-CT 的敏感度较低(67.44%),特异度为 92.16%。¹⁸F-FDG-PET-CT 的准确度(80.85%)高于增强 MRI(68.09%)。但是,¹⁸F-FDG-PET-CT 对 III 级复发肿瘤有较高的诊断准确度(91.43%)和特异度(94.74%)。这需要进一步增大亚组标本量,进一步的充分研究。¹⁸F-FDG-PET-CT 的优点还在于鉴别复发和放射损伤,能够早期描述肿瘤的活动情况,有效地指导手术治疗和放疗。

虽然¹⁸F-FDG-PET-CT 诊断的效果是很明显的,但在临床应用过程中还是要考虑到其较高的假阳性率。而且,由于脑组织对 FDG 摄取率高和 CT 缺乏明确的病灶,一些病灶可能会遗漏。由于¹⁸F-FDG-PET-CT 的敏感度较低,不建议作为检查复发的初级筛选手段。但可以在经过 MRI 检查出病灶后,再通过¹⁸F-FDG-PET-CT 进行一定的特性描述。

参考文献

[1] 胡裕效,卢光明,朱虹,等.¹⁸F-FDG PET/CT 显像的应用价值[J]. 临床肿瘤学杂志,2009,14(5):432-435.
 [2] Henson JW, Gaviani P, Gonzalez RG. MRI in treatment of adult gliomas[J]. Lancet Oncol, 2005, 6(3):167-75.
 [3] 理东丽,许乙凯,王全师,等.¹¹C-MET 和¹⁸F-FDG PET/CT 诊断胶质瘤术后残余或复发的比较[J]. 中华核医学杂志,2011,31(4):233-236.
 [4] Tripathi M, Sharma R, D'Souza M, et al. Comparative e-

valuation of F-18 FDOPA, F-18 FDG, and F-18 FLT-PET/CT for metabolic imaging of low grade gliomas[J]. Clin Nucl Med, 2009, 34(12):878-883.
 [5] 万贻绿,漆松涛,方陆雄,等. 94 例脑干胶质瘤 MRI 影像与病理分级的关系分析[J]. 中华神经外科杂志,2012,28(4):346-349.
 [6] Jenkinson MD, Du Plessis DG, Walker C, et al. Advanced MRI in the management of adult gliomas[J]. Br J Neurosurg, 2007, 21(6):550-561.
 [7] 张秀明,戴峰,乔伟,等. 磁共振功能成像在鉴别脑胶质瘤术后复发与放射性损伤中的应用[J]. 中国医学影像学杂志,2013,11(3):161-165.
 [8] Soffiatti R, Baumert BG, Bello L, et al. Guidelines on management of low-grade gliomas: report of an EFNS-EANO Task Force[J]. Eur J Neurol, 2010, 17(9):1124-1133.
 [9] Dhermain FG, Hau P, Lanfermann H, et al. Advanced MRI and PET imaging for assessment of treatment response in patients with gliomas[J]. Lancet Neurol, 2010, 9(9):906-920.
 [10] 刘云琴,钱立庭,汪世存,等. PET-CT 鉴别脑胶质瘤放疗后复发与坏死的研究[J]. 中华放射肿瘤学杂志,2011,20(3):186-188.
 [11] Asensio C, Perez-Castejon MJ, Maldonado A, et al. The role of PET-FDG in questionable diagnosis of relapse in the presence of radionecrosis of brain tumors[J]. Rev Neurol, 1998, 27(157):447-452.
 [12] Belohlavek O, Klener J, Vymazal J, et al. The diagnostics of recurrent gliomas using FDG-PET: still questionable[J]. Nucl Med Rev Cent East Eur, 2002, 5(2):127-130.

(收稿日期:2013-06-18 修回日期:2013-09-01)

(上接第 2 页)

一员。目前对精神分裂症患者中枢神经肽 2 功能的研究很少,结果也很不一致。但可以肯定的是神经肽类进化上保守,并已证明其可调节众多的行为。已经证实它们与一些精神疾病有关,包括精神分裂症。尽管人类对精神疾病的研究存在着一些固有的困难(包括标本量小,病程多变,用药状况影响,伴发的精神障碍的存在,诊断异质性),但是一些研究结果仍然值得注意。有尸检研究认为在额叶和颞皮层的神经肽系统发生了相关改变。来自遗传学的强有力的证据也认为神经肽在精神分裂症中把 Neuregulin-1(NRG1)和缩胆囊素受体的研究联系起来^[8]。

本研究初步研究结果显示了神经肽 2 在精神分裂症患者中表达的差异性,该实验诊断方法为精神分裂症的诊断提供了一种可行的方法。进一步研究宜把芯片技术和蛋白质组学技术结合起来,通过靶基因数据库筛选出相关蛋白质,与已知的蛋白质进行比对分析,以此来阐述该疾病的分子作用机制,并对筛选的蛋白质标志物进行提取、测序和鉴定。

参考文献

[1] 韩柏. 精神分裂症的现代研究[M]. 北京:中国科学技术出版社,2003:2-12.
 [2] 韩闯,杨盛昌. 高通量筛选技术及其应用[J]. 生物技术通

报,2005(2):22-25.
 [3] Ricolleau G, Charbonnel C, Lode L, et al. Surface-enhanced laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry protein profiling identifies ubiquitin and ferritin light chain as prognostic biomarkers in node2negative breast cancer tumors [J]. Proteomics, 2007, 6(6):1963-1975.
 [4] Lin YW, Lin CY, Lai HC, et al. Plasma proteomic pattern as biomarkers for ovarian cancer [J]. Gynecol Cancer, 2007, 16(1):139-146.
 [5] 程松. 精神分裂症血清多肽和 MicroRNA 表达差异研究[D]. 泸州:泸州医学院,2012.
 [6] Lacrosse AL, Olive MF. Neuropeptide Systems and Schizophrenia[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2013, 12(5):619-632.
 [7] Riley B, Kendler KS. Molecular genetic studies of schizophrenia[J]. Eur J Hum Genet, 2011, 14(6):669-680.
 [8] Cáceda R, Kinkead B, Nemeroff CB. Involvement of neuropeptide systems in schizophrenia: human studies[J]. Int Rev Neurobiol, 2007, 78:327-376.

(收稿日期:2013-06-08 修回日期:2013-08-13)