

tis B core protein in cell and cell free systems[J]. Virus Research, 2010,151(2):213-219.

[23] Tanaka Y, Marusawa H, Seno H, et al. Anti-viral proteion APO-BEC3G is induced by interferon-alpha stimulation in human hepatocytes[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 341(2): 314-319.

[24] Wang FX, Huang J, Zhang H, et al. APOBEC3G upregulation by alpha interferon restricts human immunodeficiency virus type 1 infection in human peripheral plasmacytoid dendritic cells[J]. J Gen Virol, 2008, 89(Pt 3):722-730.

[25] Chen H, Wang LW, Huang YQ, et al. Interferon-alpha Induces High Expression of APOBEC3G and STAT-1 in Vitro and in Vivo[J]. Int J Mol Sci, 2010, 11(9):3501-3512.

(收稿日期:2012-07-18)

• 综 述 •

DNA 甲基化在精神分裂症中的研究进展*

李秋平 综述,冯磊光[△] 审校

(哈尔滨医科大学第一附属医院检验科,黑龙江 哈尔滨 150001)

关键词:DNA 甲基化; 生物技术; 精神分裂症; 综述
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.035 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2012)24-3018-03

精神分裂症是与遗传相关的疾病^[1]。其病理机制与脑组织中 GABA 能神经元功能障碍有关,由它们的启动子超甲基化的 GABA 基因的表达下调介导^[2]。有学者发现精神分裂症患者死后脑组织中 reelin(络丝蛋白)的 mRNA 的表达下调约 50%。络丝蛋白和 GAD67 在精神分裂症患者皮层中表达减少与 DNMT1 在这些相同的皮质 γ 氨基丁酸能中间神经元内表达增加有关,因此,暗示在精神分裂症患者出生后甲基化下调^[3]。DNA 甲基化作为表观遗传学机制之一,与基因表达调控有关^[4]。reelin 可能经受不同浓度的 DNA 甲基化表观遗传学修饰,而且 reelin 的 DNA 甲基化畸变状态导致异常的表达可能增加精神病的易感性^[5]。

1 reelin 与精神分裂症

reelin 是由 reelin 基因编码的一种大分子细胞外基质糖蛋白^[6-7]由 Cajal-Retzius 细胞分泌,在脑组织中含丰富,调节细胞在层状大脑区域中的定位,并在皮质发育期间对神经细胞迁移的调控起到关键作用^[8]。1998 年报道了在精神分裂症中 reelin 表达的一个严重的缺失,说明了这种缺失在精神分裂症的发生学上成为一个重要的易感因素。有学者在最近的报道中提出低浓度的 reelin 和神经元的错误定位可能存在着关联^[9]。

众所周知,精神分裂症遗传是不遵循孟德尔规律的, reelin 被绘制到人染色体 7q22^[10]被报道可能是与精神分裂症多源性遗传有关的许多基因座之一^[11]。GAD67 是在 γ -氨基丁酸能神经元中从谷氨酸中合成 GABA 所必需的两种酶中的一种。络丝蛋白和 GAD67 在精神分裂症患者皮层中表达减少与 DNMT1 在这些相同的皮质 γ 氨基丁酸能中间神经元内表达增加有关,因此,暗示在精神分裂症出生后甲基化下调^[12,3]。

2 甲基化与精神分裂症

2.1 表观遗传学 表观遗传是与遗传相对的,在不改变基因组序列的前提下,通过 DNA 甲基化和组蛋白的修饰等来调控基因表达^[13]。表现遗传修饰的方式主要有 DNA 甲基化/去甲基化、组蛋白乙酰化和 RNA 干扰等。其中 DNA 甲基化最

常见^[14]。表观遗传机制影响基因转录中短暂的调节,在对认知方面必需的基因表达中,支持功能依赖性改变。因此,表观遗传促成精神分裂症的可能性,是一种具有吸引力的分子领域的假设,而且确实已经聚焦于很多研究中^[15]。

2.2 DNA 甲基化 DNA 甲基化是指在 DNA 甲基化转移酶的作用下,在基因组 CpG 二核苷酸的胞嘧啶 5' 碳位共价键结合一个甲基基团。其是一个外遗传的事件,主要发生在哺乳动物 CpG 二核苷酸胞嘧啶残基的第 15 个位置。在 CpG 甲基化结合蛋白和 DNA 甲基化转移酶(DNMTs)的作用下,使 CpG 二核苷酸 5' 端的胞嘧啶转变成 5' 甲基胞嘧啶^[16-17]。

正常人类的 DNA 中,约有 3%~6% 的胞嘧啶被甲基化。在哺乳动物中,70% 被甲基化,而基因组中大量 CpG 富有的区域被称为 CpG 岛,保持着非甲基化。CpG 岛广泛位于基因的启动子和第 1 个外显子中,他们的甲基化经常与组织特异性的基因表达有关联。异常的 DNA 甲基化引起正常发育的中断和疾病的形成例如癌症^[18]。

最近研究提出了 DNA 甲基化和去甲基化在确定的启动子中积极的控制调节基因表达。调节 DNA 甲基化至少有三种编码酶,已知的 DNMTs 催化-CH₃ 组加入到嘧啶环 5 号位的胞嘧啶残基。DNMT1 被代表性地视为一种“维护”DNMT。DNMT3a 和 3b 被认为是“重生”DNMTs^[15,19]。

2.3 DNA 甲基化与精神分裂症

2.3.1 S-COMT 启动子特异部位胞嘧啶甲基化与精神分裂症 位于 22q11 染色体上的儿茶酚-O-甲基转移酶基因已经被认为是精神分裂症易感因素的一个强烈的候选基因^[20]。Brenda C. Murphy 等人假设精神分裂症相关的 COMT 基因仅仅涉及到 DNA 甲基化。他们检测了人类 COMT 启动子区胞嘧啶 DNA 甲基化分布。结果显示胞嘧啶在这些区域仅仅只受到 CpG 二核苷酸的抑制。一些结果显示单个精神病患者血液中的 DNA 异常,存在着极度明显的阴性症状即完全甲基化的。对患有精神分裂症的异卵双胞胎血液中 DNA 甲基化没有区别。结果排除了 S-COMT 启动子甲基化是引起精神分裂

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12511292)。 [△] 通讯作者,E-mail:leiguangfeng@163.com。

症的普通原因。对显示患有精神分裂症患者的完全的甲基化胞嘧啶的独特的研究,可能潜在的影响 COMT mRNA 转录和基因的活性^[21]。

2.3.2 额叶皮层中 DNA 甲基化与重型精神病 精神分裂症和双向情感障碍一起叫做“重型精神病”^[22]。在额皮质中,发现了与精神病相关的 DNA 甲基化区分的证据包括一些相关的谷氨酸能和 GABA 能神经传递,与脑发育和其他疾病病因学机制有一定关系。DNA 甲基化在这些位点的有效部分的改变,符合与精神病有关的稳定状态 mRNA 水平研究所报道的改变。DNA 甲基化差别报道在 COMT^[23] 和 reelin 基因^[24] 附近。来自额皮质的 DNA 通过利用两个互补的方法检测 DNA 甲基化,证明 DNA 甲基化与重性精神病相关^[25]。

2.3.3 reelin 甲基化与精神分裂症 在精神分裂症和双向疾病中,reelin 基因的 mRNA 在患者死后尸体大脑中是严重降低的。因此,在患者和健康对照组中, reelin 启动子区域的甲基化是其表达下调的潜在机制^[26]。利用甲基化特异性 PCR 得出结论及精神分裂症患者在 reelin 启动子区域发现了明显的甲基化信号,在 CRE 和 SP1 结合位点一侧的 CpG 岛的超甲基化,可能为降低的 reelin 表达提供一个机制,经常在精神分裂症患者的死后脑中观察到。研究表明 reelin 基因的启动子超甲基化为精神分裂症中 reelin 基因活动减退提供了一个分子学基础^[27-28]。

2.3.4 GDA67 超甲基化与精神分裂症 精神分裂症患者 reelin 和 GAD67 蛋白质及 mRNA 表达下调,说明了这些改变是 reelin 和 GAD67 启动子表观遗传超甲基化的后果。用 L-甲硫氨酸处理精神分裂症小鼠模型,结果显示 DNA 超甲基化及相关染色质重塑,可能在精神分裂症患者的皮质层 GABA 能中间神经元中,对调停 reelin 和 GAD67 表达的表观遗传下调是重要^[29]。

3 结 语

随着社会的进步,精神分裂症越来越被重视。DNA 甲基化畸变状态导致异常的表达可能增加精神病的易感性,DNA 甲基化的表观差异和精神分裂症之间可能存在着很大的关联,尽管这一机制并没有被明确,但对于精神分裂症患者血液中 reelin 的启动子甲基化这一方面的研究需要进一步的探讨。

参考文献

- [1] Abdolmaleky HM, Thiagalingam S, Wilcox M. Genetics and epigenetics in major psychiatric disorders: dilemmas, achievements, applications, and future scope[J]. Am J Pharmacogenomics, 2005, 5(3):149-160.
- [2] Guidotti A, Auta J, Chen Y, et al. Epigenetic GABAergic targets in schizophrenia and bipolar disorder[J]. Neuropharmacology, 2011, 60(7/8):1007-1016.
- [3] Tueting P, Doueiri MS, Guidotti A, et al. Reelin down-regulation in mice and psychosis endophenotypes[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2006, 30(8):1065-1077.
- [4] Abdolmaleky HM, Cheng KH, Russo A, et al. Hypermethylation of the reelin(RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: a preliminary report[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2005, 134B(1):60-66.
- [5] Tamura Y, Kunugi H, Ohashi J, et al. Epigenetic aberration of the human REELIN gene in psychiatric disorders[J]. Molecular Psy-

- chiatry, 2007, (12):593-600.
- [6] Maloku E, Covelo IR, Hanbauer I, et al. Lower number of cerebellar Purkinje neurons in psychosis is associated with reduced reelin expression[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(9):4407-4411.
- [7] Galit Ovidia, Sagiv Shifman. The Genetic Variation of RELN Expression in Schizophrenia and Bipolar Disorder[J]. PLoS ONE, 2011, 6(5):e19955.
- [8] Bernard S, Fusun Duzcan, Seonhee Kim, et al. The Role of RELN in Lissencephaly and Neuropsychiatric Disease[J]. Neuropsychiatric Genetics, 2007, 144(2):58-63.
- [9] Caruncho HJ, Dopeso-Reyes IG, Loza MI, et al. A GABA, reelin, and the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia[J]. Crit Rev Neurobiol, 2004, 16(1/2):25-32.
- [10] DeSilva U, D'Arcangelo G, Braden VV, et al. The human reelin gene: isolation, sequencing, and mapping on chromosome 7[J]. Genome Res, 1997, 7(2):157-164.
- [11] Carboni G, Tueting P, Tremolizzo L, et al. Enhanced dizocilpine efficacy in heterozygous reeler mice relates to GABA turnover downregulation[J]. Neuropharmacology, 2004, 46(8):1070-1081.
- [12] Serajee FJ, Zhong H, Mahbulul Huq AH. Association of Reelin gene polymorphisms with autism[J]. Genomics, 2006, 87(1):75-83.
- [13] Abdolmaleky HM, Smith CL, Faraone SV, et al. Methyloomics in psychiatry: Modulation of gene-environment interactions may be through DNA methylation[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2004, 127B(1):51-59.
- [14] Zhang X, Ho SM. Epigenetics meets endocrinology[J]. J Mol Endocrinol, 2011, 46(1):R11-32.
- [15] Roth TL, Lubin FD, Sodhi M, et al. Epigenetic mechanisms in schizophrenia[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1790(9):869-877.
- [16] Kangaspeska S, Stride B, Métiévier R, et al. Transient cyclical methylation of promoter DNA[J]. Nature, 2008, 452(7183):112-115.
- [17] Métiévier R, Gallais R, Tiffocche C, et al. Cyclical DNA methylation of a transcriptionally active promoter [J]. Nature, 2008, 452(7183):45-50.
- [18] Feinberg AP. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease[J]. Nature, 2007, 447(7143):433-440.
- [19] Iwamoto K, Kato T. Epigenetic profiling in schizophrenia and major mental disorders[J]. Neuropsychobiology, 2009, 60(1):5-11.
- [20] Abdolmaleky HM, Cheng KH, Faraone SV, et al. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder[J]. Hum Mol Genet, 2006, 15(21):3132-3145.
- [21] Murphy BC, O'Reilly RL, Singh SM. Site-specific cytosine methylation in S-COMT promoter in 31 brain regions with implications for studies involving schizophrenia[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2005, 133B(1):37-42.
- [22] Rutten BP, Mill J. Epigenetic mediation of environmental influences in major psychotic disorders[J]. Schizophr Bull, 2009, 35(6):1045-1056.
- [23] Hibi T, Mizutani M, Baba A, et al. Splicing variations in the ligand-binding domain of ApoER2 results in functional differences in the binding properties to Reelin[J]. Neurosci Res, 2009, 63(4):251-258.

[24] Grayson DR, Jia X, Chen Y, et al. Reelin promoter hypermethylation in schizophrenia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(26):9341-9346.

[25] Mill J, Tang T, Kaminsky Z, et al. Epigenomic profiling reveals DNA-methylation changes associated with major psychosis[J]. Am J Hum Genet, 2008, 82(3):696-711.

[26] Chen Y, Sharma RP, Costa RH, et al. On the epigenetic regulation of the human reelin promoter[J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30(13):2930-2939.

[27] Chen Z, Schwahn BC, Wu Q, et al. Postnatal cerebellar defects in mice deficient in methylenetetrahydrofolate reductase[J]. Int J Dev

Neurosci, 2005, 23(5):465-474.

[28] Abdolmaleky HM, Cheng KH, Russo A, et al. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: a preliminary report[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2005, 134B(1):60-66.

[29] Dong E, Agis-Balboa RC, Simonini MV, et al. Reelin and glutamic acid decarboxylase67 promoter remodeling in an epigenetic methionine-induced mouse model of schizophrenia[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(35):12578-12583.

(收稿日期:2012-08-08)

• 综 述 •

血流感染现状及诊断方法研究进展*

梁 琚, 张 洲 综述, 徐元宏[△] 审校

(安徽医科大学第一附属医院检验科, 安徽合肥 230032)

关键词: 毒血症; 实验室技术和方法; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 24. 036

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)24-3020-02

血流感染(BSI)是由于各种病原微生物进入血液循环,繁殖并释放毒素及代谢产物,引起机体中毒、感染及全身性炎症反应(SIRS)的一种较为严重的感染性疾病。近年来由于静脉导管留置、机械通气、肠外给药等侵入性设备及治疗的广泛应用,免疫抑制剂及大量抗菌药物的滥用^[1],血流感染的发病率逐年上升,受到了越来越多临床医生的重视。本文就血流感染的流行病学现状、病原菌分布、诊断技术及实验室早期诊断的研究进展予以综述。

1 血流感染的流行病学现状

国外有关报道,血流感染发病率 1986 年为 1.6%,2006 年增加到了 3.1%,死亡率为 21%~48%^[2]。国内有关报道,秦克秀等^[3]对 2003~2006 年某三甲医院的血培养标本进行了分析,2003 年分离出 115 例阳性标本,到 2006 年阳性标本以增加到 307 例,四年的血流感染发病率呈逐年上升趋势。由此可见血流感染发病率及死亡率呈现全球性的增长。

2 血流感染的病原菌分布

2.1 革兰阴性菌所致的血流感染 国内血流感染病原菌中,革兰阴性菌比例最多。2006~2007 年卫生部关于全国细菌耐药监测网报道^[4],血流感染病原菌中,革兰阴性菌占 51.3%,革兰阳性菌占 47.8%,真菌占 0.9%,革兰阴性菌略高于革兰阳性菌。根据近年来文献报道^[4-5],大肠埃希菌在革兰阴性菌血流感染中占首位,其次为肺炎克雷伯菌等;革兰阴性非发酵菌中以鲍曼不动杆菌及铜绿假单菌最为常见。

2.2 革兰阳性菌所致的血流感染 国内外报道^[5-6],革兰阳性菌所致的血流感染以凝固酶阴性的葡萄球菌(CNS)为主,其次为金黄色葡萄球菌及肠球菌属等。CNS 为定植表皮的条件致病菌,当机体抵抗力下降时,易侵入机体发生 CNS 型血流感染。金黄色葡萄球菌中耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)有所增加,耐药性增强。肠球菌属以粪肠球菌和屎肠球菌最为常见。

2.3 真菌所致的血流感染 念珠菌属在真菌性血流感染中占首位。Ortega 等^[7]对念珠菌属引起的血流感染进行分析发现,白色念珠菌占 48%,非白色念珠菌占 52%,白色念珠菌在真菌性血流感染中比例最高,其次为近平滑念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌等。其他真菌如马尔尼非青霉菌、新型隐球菌等有少量报道。

3 血流感染的诊断技术

3.1 血培养 血培养被公认为是诊断败血症、菌血症的金标准。但培养周期长,可延误诊断及治疗。血培养操作过程中易受到其他杂菌污染,影响结果的准确性。如 CNS 是人体皮肤正常定植菌,在血标本采集和鉴定过程中易造成污染^[8]。因此规范采集血液标本,严格按照标准操作,可大幅度提高检测质量诊断的准确性。

3.2 PCR 技术 运用 PCR 及实时荧光 PCR(real-time PCR)技术对于细菌及真菌性血流感染进行诊断。通过检测细菌通用 16SrRNA 基因,检测细菌性血流感染。运用 PCR 或 real-time PCR 技术设定不同菌种的特定引物测定 16SrRNA DNA 序列,对血标本感染的菌种进行鉴定,可以快速早期诊断血流感染^[9]。通过真菌通用引物 ITS1、ITS2 扩增酵母菌的 18SrRNA 基因及 5.8SrRNA 基因小片段和它们之间的 ITS1 片段,建立多重 PCR 技术对真菌性血流感染进行鉴定^[10]。

3.3 DNA 微阵列技术 DNA 微阵列即基因芯片。其原理是指将不同 DNA 或 RNA,与点在固相支持物上的同一探针杂交,比较两个阵列全部对应点杂交信号强度,可同时检测大量基因表达的变化。Tissari 等^[11]运用 DNA 微阵列技术快速准确地对血培养阳性标本进行菌种鉴别。

3.4 流式细胞术 流式细胞术(FCM)是指在功能水平上对单个细胞或其他生物粒子进行分选和定量分析的一种检测手段。根据国外有关报道^[12],使用肽核酸探针的荧光原位杂交技术与流式细胞术相结合,对血标本中的金黄色葡萄球菌进

* 基金项目:安徽省教育厅医学重点项目(KJ2011A181);安徽省卫生厅医学科研重点项目(2010C052);安徽省高校自然科学基金(KJ2009B078)。 [△] 通讯作者, E-mail:xyhong1964@163.com。