

• 临床检验研究论著 •

精神分裂症患者外周血液中 Reelin 蛋白的表达*

冯磊光¹, 曹鸿雁¹, 祁萍萍¹, 赵娜², 张虹¹, 宋志伟^{1△}

(哈尔滨医科大学附属第一医院: 1. 检验科; 2. 精神科; 黑龙江哈尔滨 150001)

摘要:目的 探讨 Reelin 蛋白与精神分裂症的关系。方法 将 89 例精神分裂症患者作为精神分裂症组, 89 例健康者作为对照组, 采用 Western blot 检测其外周血 Reelin 蛋白的表达。结果 精神分裂症组患者外周血 Reelin 蛋白表达水平 (0.66 ± 0.27) 显著低于对照组 (1.01 ± 0.23) ($P < 0.05$)。精神分裂症组男、女性患者 Reelin 蛋白表达水平分别为 0.66 ± 0.22 、 0.66 ± 0.26 , 二者差异无统计学意义 ($t = 0.181, P > 0.05$), 对照组男、女性受检者 Reelin 蛋白表达水平分别为 1.01 ± 0.25 、 1.02 ± 0.26 , 二者差异无统计学意义 ($t = 0.201, P > 0.05$)。结论 Reelin 蛋白表达的降低与精神分裂症有关。

关键词:精神分裂症; 蛋白, Reelin; 印迹法, 蛋白质

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.10.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)10-1291-02

Reelin protein expression in peripheral blood of patients with schizophrenia*

Feng Leiguang¹, Cao Hongyan¹, Qi Pingping¹, Zhao Na², Zhang Hong¹, Song Zhiwei^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Psychiatry, the First Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between the Reelin protein and schizophrenia. **Methods** 89 patients with schizophrenia were served as schizophrenic group and 89 healthy people as control group. Western blot was employed to detect their peripheral blood Reelin protein expression. **Results** The expression level of peripheral blood Reelin protein of patients in schizophrenic group (0.66 ± 0.27) was significantly lower than that in the control group (1.01 ± 0.23) ($P < 0.05$). Reelin protein expression levels of male and female patients in schizophrenic group were 0.66 ± 0.22 and 0.66 ± 0.26 , respectively, with no statistically significant difference ($t = 0.181, P > 0.05$). Reelin protein expression levels of male and female subjects in the control group were 1.01 ± 0.25 and 1.02 ± 0.26 , respectively, with also no statistically significant difference ($t = 0.201, P > 0.05$). **Conclusion** The low expression level of Reelin protein is related to schizophrenia.

Key words: schizophrenia; protein, Reelin; blotting, Western

精神分裂症是一种以幻听、妄想和认知障碍为特征与遗传有关的疾病^[1], 在世界人口中患病率约占 1%, 其病因至今尚未完全阐明。了解精神分裂症的病因和病理生理学机制对治疗疾病有极大的作用。Reelin 蛋白是一种由 γ 氨基丁酸能中间神经元分泌的细胞外基质糖蛋白, 近年来, 国外学者对精神分裂症患者死后尸检的大脑标本研究证实, 多个脑区中 REIN 基因表达显著降低^[2-3]。目前研究指出, Reelin 蛋白不但与哺乳动物胚胎期间脑正常皮层结构有关, 还涉及成人对认知功能有帮助的细胞信号转导系统。为进一步探讨 REIN 基因在精神分裂症发生和发展中的作用, 笔者收集了精神分裂症患者和健康者各 89 例的外周静脉血标本, 采用 Western blot 技术分析血液中 Reelin 蛋白的表达特点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院精神科就治的 89 例精神分裂症患者作为精神分裂症组, 其中, 男 30 例, 女 59 例; 平均年龄为 (29.31 ± 6.72) 岁; 纳入标准: (1) 均符合美国精神疾病诊断与统计手册 (diagnostic and statistical manual of mental disorders, DSM) 第 4 版精神分裂症的诊断标准; (2) 阳性和阴性综

合征量表 (positive and negative syndrome scale, PANSS) 总分不低于 60 分; (3) 入院前未服药或已停药 2 周以上; (4) 年龄 18~60 岁, 排除心、肝、肾、内分泌、血液、风湿病、消化系统及营养不良等疾病, 排除烟草、乙醇及其他精神活性物质滥用史。另将本院体检中心接受体检的健康者 89 例作为对照组, 其中, 男 28 例, 女 61 例; 平均年龄 (32.19 ± 7.86) 岁; 纳入标准: PANSS 总分不高于 40 分, 年龄为 18~60 岁; 排除标准与精神分裂症组相同。精神分裂症组患者与对照组受检者性别及年龄匹配。

1.2 标本的采集与处理 患者入院后次日清晨采集空腹静脉血 4.0 mL, 放入乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) 抗凝管中, 离心后血浆存放 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱, 在取血当天由 2 名受过训练的医师完成 PANSS 评定。

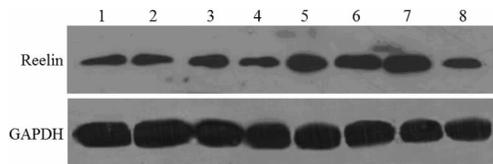
1.3 Western blot 检测 解冻待测样本, 并将其与蛋白上样缓冲液按 3:1 混合, 煮沸 8 min, $12\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 5 min, 取上清液, 待检。取最大上样量 $30\ \mu\text{L}$, 进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)、转膜、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 封闭过液; 加入 Anti-

Reelin142 单克隆抗体(1 : 500 稀释)37 °C 孵育 2 h, 含吐温-20 的 Tris 缓冲液(Tris-buffered saline with Tween-20, TBST)洗膜, 加入辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG(1 : 5 000 稀释)37 °C 孵育 2 h, TBST 洗膜; 增强化学发光法(enhanced chemiluminescence, ECL)显色, 经 X 胶片曝光、显影, 图片扫描, 分析每个特异条带灰度值变化, 内参为甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)单克隆抗体。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 计数资料用率表示, 以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

精神分裂症组患者外周血 Reelin 蛋白表达水平(0.66 ± 0.27)显著低于对照组(1.01 ± 0.23), 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见图 1。精神分裂症组男、女性患者 Reelin 蛋白表达水平分别为 0.66 ± 0.22、0.66 ± 0.26, 二者差异无统计学意义($t = 0.181, P > 0.05$), 对照组男、女性受检者 Reelin 蛋白表达水平分别为 1.01 ± 0.25、1.02 ± 0.26, 二者差异无统计学意义($t = 0.201, P > 0.05$)。精神分裂症组患者 Reelin 蛋白表达水平随年龄的增长有下降趋势, 而对照组不明显。



1~4: 精神分裂症组; 5~8: 对照组。

图 1 外周血 Reelin 蛋白、GAPDH 的电泳图

3 讨 论

Reelin 蛋白定位于人类染色体 7q22, 是一种具有丝氨酸蛋白酶活性的糖蛋白, 相对分子质量为 388 000。SDS-PAGE 显示 Reelin 蛋白主要存在 410 000、330 000 及 180 000 等蛋白条带^[4]。神经解剖学研究证实, *RELN* 基因及 Reelin 蛋白与精神分裂症的发生密切相关。通过研究精神分裂症患者尸脑组织发现, 多个脑区中 *RELN* 基因表达下降^[5-11]。

本研究显示, 精神分裂症组患者外周血 Reelin 蛋白(相对分子质量 180 000)表达水平显著低于对照组, 且与性别无关; SDS-PAGE 未检测到 Reelin 蛋白的 410 000 及 330 000 条带。Fatemi 等^[12]对越南(10 例)、高加索(4 例)、苗族(1 例)和老挝(1 例)精神分裂症患者外周血 Reelin 蛋白表达的研究显示, 上述 4 个不同种族患者的血 Reelin 蛋白(相对分子质量 180 000)表达水平显著低于健康者, 这与本研究结果相同; 上述患者的血 Reelin 蛋白(相对分子质量 410 000)表达水平显著高于健康者, 越南精神分裂症患者 Reelin 蛋白(相对分子质量 330 000)表达水平降低, 其余 3 个种族患者则显著增高, 与本研究结果不同, 这可能与基因表达存在种族特异性有关。另外, 本实验 SDS-PAGE 未检测到 Reelin 蛋白(相对分子质量 410 000)及 Reelin 蛋白(相对分子质量 330 000)条带, 可能与实验温度控制及标本冻溶有关, 因为加热、反复冻溶可影响 Reelin 蛋白稳

定性, 使其发生降解^[4]。

本研究提示, Reelin 蛋白降低可能成为精神分裂症一个病理学因素。血 Reelin 蛋白表达水平可能被用作诊断精神疾病的血液标志物, 也可能用于介入治疗的靶标。国外最新研究显示, 异常 DNA 甲基化可能引起 *RELN* 基因表达的变化, 这需要今后大样本研究进行探讨。

参考文献

- [1] Gershon ES, Alliey-Rodriguez N, Liu C. After GWAS: searching for genetic risk for schizophrenia and bipolar disorder[J]. Am J Psychiatry, 2011, 168(3): 253-256.
- [2] Fatemi SH. Reelin glycoprotein: structure, biology and roles in health and disease[J]. Mol Psychiatry, 2005, 10(3): 251-257.
- [3] Eastwood SL, Harrison PJ. Cellular basis of reduced cortical reelin expression in schizophrenia[J]. Am J Psychiatry, 2006, 163(3): 540-542.
- [4] Lugli G, Krueger JM, Davis JM, et al. Methodological factors influencing measurement and processing of plasma reelin in humans[J]. BMC Biochem, 2003, 4: 9.
- [5] 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.
- [6] Guidotti A, Auta J, Davis JM, et al. Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study[J]. Arch Gen Psychiatry, 2000, 57(11): 1061-1069.
- [7] Fatemi SH, Earle JA, McMenomy T. Reduction in Reelin immunoreactivity in hippocampus of subjects with schizophrenia, bipolar disorder and major depression[J]. Mol Psychiatry, 2000, 5(6): 654-663.
- [8] Costa E, Davis J, Grayson DR, et al. Dendritic spine hypoplasticity and downregulation of reelin and GABAergic tone in schizophrenia vulnerability[J]. Neurobiol Dis, 2001, 8(5): 723-742.
- [9] Romano E, Michetti C, Caruso A, et al. Characterization of neonatal vocal and motor repertoire of reelin mutant mice[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64407.
- [10] 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.
- [11] Levenson JM, Qiu S, Weeber EJ. The role of reelin in adult synaptic function and the genetic and epigenetic regulation of the reelin gene[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1779(8): 422-431.
- [12] Fatemi SH, Kroll JL, Stary JM. Altered levels of Reelin and its isoforms in schizophrenia and mood disorders[J]. Neuroreport, 2001, 12(15): 3209-3215.

(收稿日期: 2014-02-08)