

论著 · 临床研究

多巴胺 D2 受体基因/ANKK1TaqIA 多态性与小婴儿气质

马静¹ 黄春香¹ 皮丕湘² 夏爱斌³ 苏林雁¹

(1. 中南大学湘雅二医院精神卫生研究所; 2. 中南大学湘雅二医院妇产科; 3. 长沙市妇幼保健院妇产科, 湖南 长沙 410011)

[摘要] **目的** 探讨多巴胺 D2 受体基因(DRD2)/含锚蛋白重复和激酶域 1 Taq IA 基因(ANKK1Taq IA)(rs1800497)多态性与小婴儿气质是否存在关联。**方法** 采用聚合酶链反应-连接酶检测(PCR-LDR)多态性分析技术,检测了长沙市 149 名汉族婴儿的 Taq IA 基因多态性;用小婴儿气质问卷(EITQ)在婴儿出生后 1~4 月(平均年龄 2.75 月)时测查其气质(母亲填写);根据 TaqIA 多态性等位基因片段大小分为 C/C 型、T/T 型、C/T 型。将气质类型分为含“T”基因型组(T/T + T/C)和不含“T”基因型组(C/C)进行统计分析。**结果** 含“T”基因型组和不含“T”基因型组婴儿其气质类型分布差异无显著性,在气质 9 个维度上的得分差异均无显著性。**结论** DRD2/ANKK1TaqIA 多态性与小婴儿气质无相关关系。
[中国当代儿科杂志,2010,12(2):106-109]

[关键词] 多巴胺 D2 受体基因;气质;ANKK1TaqIA;多态性;婴儿
[中图分类号] R395.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)02-0106-04

DRD2/ANKK1 Taq IA polymorphism and early infant temperament

MA Jing, HUANG Chun-Xiang, PI Pi-Xiang, XIA Ai-Bin, SU Lin-Yan. Mental Health Institute, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China (Huang C-X, Email:hcx0301@sohu.com)

Abstract: Objective To investigate whether there is an association between DRD2/ANKK1 Taq IA polymorphism and early infant temperament. **Methods** DRD2/ANKK1 Taq IA polymorphism (rs1800497) was determined using polymerase chain reaction-ligase detection reaction (PCR-LDR) techniques in 149 Chinese Han infants from Changsha City. Their mothers were asked to complete the Early Infant Temperament Questionnaires (EITQ) when the infants were 1 to 4 months old (mean: 2.75 months). There were three genotypes found in these infants: C/C, T/T and C/T. The subjects were subdivided into T-carrier (CT, TT) and non-T-carrier (CC) groups for statistical analysis. **Results** There were no differences in the temperament style distribution between the T-carrier and non-T carrier groups. There were also no statistically significant differences between the two groups in the score of the nine temperament dimensions. **Conclusions** DRD2/ANKK1 Taq IA polymorphism is not associated with early infant temperament.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (2):106-109]

Key words: DRD2; Temperament; ANKK1TaqIA; Polymorphism; Infant

小婴儿气质是小婴儿的行为特征,是人类行为最本初、也是最基础的状态。气质受遗传因素的影响,具有相当的稳定性,气质遗传率在 20%~60% 之间^[1]。长期以来国内对气质的研究主要采用量表、问卷,也有报道从免疫和神经内分泌领域研究儿童气质。但是,相关的遗传学研究并不多见。DRD2/ANKK1 Taq IA 因其生理功能的特殊性而倍受瞩目^[2-3]。国内外有研究认为 DRD2/ANKK1 Taq IA 多态性与物质滥用、认知功能水平、情绪调节有关^[4-5],而与小婴儿气质的关系,国外报道少,国内尚

未见报道。为探讨 Taq IA (rs1800497)多态性与小婴儿气质的关系,本研究在长沙市汉族人群中随机抽取部分婴儿进行了气质与 DRD2/ANKK1 Taq IA 多态性的相关分析,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象

149 名研究对象为 2005 年 6 月至 2007 年 1 月在中南大学湘雅二医院妇产科和长沙市妇幼保健院

[收稿日期]2009-07-28;[修回日期]2009-10-04
[作者简介]马静,女,硕士研究生,住院医师。
[通讯作者]黄春香,副教授。

出生的婴儿。纳入标准：母亲年龄小于35岁,无严重躯体疾病(包括癫痫、精神发育迟滞等神经精神疾病);无慢性消耗性疾病;无物质滥用史;无精神疾病家族史;产前常规检查正常;胎儿足月发育正常。婴儿出生后至完成EITQ前排除标准：婴儿患较严重的躯体疾病;罹患癫痫、精神发育迟滞等神经精神疾病及中重度营养不良。采用随机整群抽样的方法,获得知情同意后在婴儿出生时取脐血样本进行基因多态性分析。

1.2 多态性测定

1.2.1 PCR扩增 采集外周脐血2 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,用酚-氯仿-无水乙醇法提取DNA。PCR扩增所用引物为^[3]:正向5'-CAACA-CAGCCATCCTC-3'和反向:5'-TCACTCCATCCTG-GAC-3'。反应体系为:10×反应缓冲液2.0 μL,Mg²⁺0.6 μL,dNTP 2.0 μL,引物各0.4 μL,Taq DNA聚合酶0.2 μL,样本DNA 1 μL,补充纯水至20 μL。在Gene Amp PCR System 9600(PERKIN EL-MER公司)和MJ PTC-200 Gradient cycler上进行PCR反应。反应条件为:95℃ 15 min,94℃ 30 s,56℃ 1 min,72℃ 1 min,72℃ 7 min,共35个循环。3%的琼脂糖凝胶电泳检测,观察PCR产物的效果。

1.2.2 多重LDR反应(ligase detection reaction)

将含有突变位点的DNA片段进行LDR反应,反应体系:1×缓冲液1 μL,12.5 pmol/μL的探针(上海生工生物工程技术服务有限公司合成。通用探针:5'-AGGCAGGCGCCCAGCTG-GACGTCCATTTTTTTTTTTTTTTT-3';识别探针:5'-CTTTTTTTTTTTTTTTTACAGCCATCCTCAAAGTG-CTGGTCG-3'; 5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTACAGC-CATCCTCAAAGTGCTGGTCA-3')混合物1 μL,2 U的连接酶0.05 μL,100 ng/μL的PCR产物≥1 μL。反应条件:95℃ 2 min,94℃ 30 s,60℃ 2 min,35个循环。

1.2.3 基因型分析 将LDR反应产物用测序胶进行电泳(电泳系统JY600+:北京君意东方电泳设备有限公司;FR-200A全自动紫外与可见分析装置及生物电泳图像分析系统;上海复日科技有限公司),采用全自动DNA序列分析仪(ABI PRISM 377 DNA Sequencer)测序。最后用GeneMapper软件进行数据分析。

1.3 气质调查

采用小婴儿气质问卷(EITQ)^[6]。婴儿1~4个月大时,由母亲填写EITQ问卷,邮寄或扫描发回至中南大学湘雅二医院精神卫生研究所。该量表由

76个问题组成,代表儿童日常生活中的行为方式,适用于1~4个月婴儿。由母亲针对这些项目,以“1~6”分级对孩子的行为进行评分。“1”代表项目中描述的情况孩子从来没有发生过,“2~6”分别代表很少发生、不常发生、时常发生、经常发生、总是发生。根据各相关项目的得分,使用儿童气质分析软件测定气质9个维度的得分(活动水平、节律性、趋避性、适应性、反应阈限、反应强度、心境、注意力分散度和坚持性)。气质类型分5型:容易型、中间偏容易型、困难型、中间偏困难型和启动缓慢型。

1.4 统计学分析

对多态性检测结果做Hardy Weinberg平衡检验。将基因型分为含“T”组(包括C/T、T/T等位基因型)和不含“T”组(C/C等位基因型),对两组基因型中婴儿气质9个维度得分进行单因素方差分析;使用Man-Whitney U检验了解含“T”组(包括C/T、T/T等位基因型)和不含“T”基因型组气质类型分布有无差异。采用SPSS for Windows 11.5软件包进行统计分析。

2 结果

2.1 Taq IA 等位基因频率及分布

长沙市汉族人群小婴儿样本的Taq IA基因多态性中观察到C/C、C/T、T/T等位基因型,其中C/C 57例(38.2%),C/T 67例(45.0%),T/T 25例(16.8%)。

2.2 Hardy Weinberg 平衡检验

为验证该样本的基因频率是否可以代表当地正常人群的基因频率,对样本Taq IA多态性进行了基因型的Hardy Weinberg平衡检验(<http://www.oege.org/software>)。分别输入常见纯和子、杂合子及罕见纯和子的数目,系统自动运行该检验。结果显示: $\chi^2=0.49,P>0.05$,说明此样本基因频率达到遗传平衡,可以代表当地正常人群的等位基因频率,也说明基因多态性的检测结果较可靠。

2.3 气质检测结果及不同基因型组婴儿气质各维度得分比较

149例婴儿问卷约97%由母亲填写,婴儿平均年龄为2.75月。气质9维度的基本评分(均数±标准差)为:活动水平(3.65±0.76),节律性(3.12±0.60),趋避性(2.43±0.90),适应性(2.15±0.64),反应强度(3.61±0.79),情绪本质(2.74±0.58),坚持性(2.97±0.78),注意分散度(2.41±0.68),反应阈(4.38±0.63)。不同气质类型分别

为:容易型 70 例(47%),中间偏容易 55 例(36.9%),启动缓慢型 3 例(2%),中间偏困难型 9 例(6%),困难型 12 例(8.1%)。含“T”基因型组(T/T + T/C)92 例,不含“T”基因型组(C/C)57 例。单因素方差分析示含“T”基因型组和不含“T”基因型组婴儿气质 9 个维度得分差异均无统计学意义。见表 1。

表 1 婴儿 1~4 月龄时气质各维度得分在含 T 和不含 T 基因型组的比较 ($\bar{x} \pm s$)

气质维度	基因型组别		F 值	P 值
	T/T + T/C (n = 92)	C/C (n = 57)		
活动水平	3.64 ± 0.75	3.68 ± 0.78	0.12	0.73
节律性	3.14 ± 0.56	3.09 ± 0.65	0.25	0.62
趋避性	2.39 ± 0.90	2.49 ± 0.90	0.47	0.49
反应强度	3.63 ± 0.82	3.59 ± 0.74	0.07	0.79
反应域	4.41 ± 0.63	4.34 ± 0.63	0.38	0.53
注意力分散度	2.36 ± 0.67	2.48 ± 0.70	1.05	0.3
坚持性	3.02 ± 0.85	2.89 ± 0.66	0.92	0.34
情绪本质	2.71 ± 0.58	2.79 ± 0.58	0.63	0.43
适应性	2.10 ± 0.64	2.22 ± 0.64	1.1	0.3

2.4 不同基因型组婴儿气质类型分布的比较

Man-Whitney U 检验结果亦显示:“T/T + T/C”基因型组和 C/C 基因型组婴儿气质类型分布差异无统计学意义($U = 1\,259.5, P = 0.79$)。见表 2。

表 2 不同基因型组婴儿气质类型分布的比较 [频数(%)]

组别	例数	气质类型				
		容易型	中间偏容易型	自动缓慢型	中间偏困难型	困难型
T/T + T/C	92	44(47.8)	34(37)	1(1.1)	6(6.5)	7(7.6)
C/C	57	26(45.6)	21(36.8)	2(3.5)	3(5.3)	5(8.8)

3 讨论

多巴胺作为第三类儿茶酚胺类神经递质,广泛存在于中枢和外周组织,并在中枢和外周组织的不同部位被合成。多巴胺受体可分为 D1 和 D2 两个家族,共 5 种:D1、D2、D3、D4、D5 受体。多巴胺 D2 受体属于 D2 家族。中枢多巴胺 D2 受体主要分布于纹状体区,编码 D2 受体的基因位于 11q22-23^[7]。DRD2/ANKK1 Taq IA 位于多巴胺 D2 受体基因下游 9.6 kb 处,虽然在既往的研究中“多巴胺 D2 受体基因 Taq IA 多态性”这种提法很常见,但是实际上 Taq IA 位于和多巴胺 D2 受体基因邻近的 ANKK1 基因,严格讲并非在多巴胺 D2 受体基因上。ANKK1 基因编码的 ANKK1 蛋白,以前被称为 SgK288,属于丝氨

酸/苏氨酸激酶家族。Taq IA 多态性“C”到“T”的转换,会导致某类氨基酸的变化,从而影响蛋白之间的交互作用^[2]。含有 T/T 等位基因的个体比含有 C/T 等位基因的个体多巴胺 D2 受体的数量会减少 30%~40%^[4]。T 等位基因在各种人种的群体中差别很大,从最低的也门犹太人的 0.09 到最高的美国印第安人的 0.75^[8]。本组样本 Taq IA T 等位基因频率为 0.62。

气质是人类与生俱来的行为特征,气质有不同的分类方法,其中,Thomas 和 Chess 的分类方法是将气质特征分为 9 个维度:活动水平、节律性、趋避性、反应强度、反应阈、情绪本质、适应性、注意力分散度和坚持性。婴儿气质,即婴儿的行为特征与青少年期及成人后的成瘾行为、认知功能、情绪调节紧密相关,可能在某种程度上这种紧密关联说明它们可能涉及相同的遗传基础。多巴胺系统一直以来都是很多精神疾病遗传学研究的热点,但它和气质的关系却非常复杂,因为气质会随着后天的环境、教育等发生一定的变化^[9]。同时气质的分类方法多样也增加了相关研究的复杂性。小婴儿气质是气质较少受环境因素作用下的一种状态,因此最适合于进行气质的遗传学研究。另外,考虑到小婴儿行为和婴儿长大后的病理行为、精神疾病以及认知功能的紧密联系,了解这些联系对于全面考虑其与 DRD2/ANKK1 Taq IA 的关系大有裨益。本研究使用的问卷国内报道内部一致性为 0.43~0.76,中位数 0.62,平均 0.56;重测信度 0.43~0.87^[10]。国外报道其内部一致性在 0.49(注意力分散度)~0.71(反应强度)之间,平均 0.59^[11]。

DRD2/ANKK1 Taq IA 和认知功能、成瘾行为、情绪调节关系的研究结果很不一致。DRD2/ANKK1 Taq IA 与认知的关系方面:McAllister 等^[12]发现 T 等位基因和加利福尼亚语言学习测试这一认知任务的水平有关,而 Bombin 等^[4]报道 Taq IA 多态性和精神病的认知功能缺陷没有相关关系;与成瘾行为的关系方面:有研究称 DRD2 Taq IA T 等位基因与酒精、可卡因、尼古丁、阿片类物质等成瘾行为有关^[5,10],也有研究得出相反的结论,即 DRD2 Taq IA T 等位基因与酒精等物质依赖无关^[13-14];与情绪的关系方面:Elovainio 等^[15]研究发现应激性生活事件增加抑郁症状的发生风险,但是这种关联仅见于 Taq IA C/T 基因型的个体(这和很多阳性研究发现含“T”等位基因的作用不一致)。另外,目前相关的研究有阳性发现者,一般作用也比较微弱,需要大样本或 Meta 分析才能得出更科学的结论^[8]。

本研究发现含“T”等位基因组小婴儿和不含“T”基因的小婴儿在气质9个维度的得分上差异无统计学意义,气质分型的分布特征两组间差异亦无统计学意义。既往关于DRD2/ANKK1 Taq IA 和人格、气质特征关系的研究结果也很不一致。Noble等^[16]曾报道DRD2 Taq IA T与猎奇行为有微弱的相关;Burt等^[17]后来用基本相似的方法重复之前的研究,但结果否定了这种相关。Nyman等^[18]通过大样本的队列研究称DRD2 Taq IA T与猎奇行为、伤害逃避和坚持性都有关;Montag等^[19]否定了DRD2 Taq IA 和惊恐反应调节(affective startle reflex modulation)有关。现在研究者逐渐将目光转向产前环境和基因交互作用影响婴儿行为的问题,如Wiebe等^[20]报道是Taq IA T/T基因型的婴儿,母孕期吸烟者比不吸烟者注意力更难集中。本研究结果为“DRD2/ANKK1 Taq IA 与小婴儿气质无相关关系”这一观点增添了新的证据。因此,根据当前这个样本的研究结果,我们认为尚不能作出“DRD2/ANKK1 Taq IA 与小婴儿气质,即小婴儿的行为特征有关”这一结论。

致谢:我们诚挚感谢参与我们课题,并配合我们在百忙中填写问卷并寄回的家长们;感谢做遗传学实验的同道们的辛勤工作。

[参 考 文 献]

[1] Saudino KJ. Behavioral genetics and child temperament [J]. *J Dev Behav Pediatr*, 2005, 26(3):275-286.

[2] Huang WH, Payne TJ, Ma JZ, Beuten J, Dupont RT, Inohara N, et al. Association of ANKK1 and detection of a functional polymorphism with nicotine dependence in an African-American sample [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2009, 34(2):319-330.

[3] Bergen AW, Yeager M, Welch RA, Haque K, Ganjeet JK, van den Bree MB, et al. Association of multiple DRD2 polymorphisms with anorexia nervosa [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2005, 30(9):1703-1710.

[4] Bombin I, Arango C, Mayoral M, Castro-Fornieles J, Gonzalez-Pinto A, Gonzalez-Gomez C, et al. DRD3, but not COMT or DRD2, genotype affects executive functions in healthy and first-episode psychosis adolescents [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2008, 147B(6):873-879.

[5] Munafò MR, Matheson IJ, Flint J. Association of the DRD2 gene Taq1A polymorphism and alcoholism: a meta-analysis of case-control studies and evidence of publication bias [J]. *Mol Psychiatry*, 2007, 12(5):454-461.

[6] 中国行为医学科学编委会. 行为医学量表手册 [M]. 北京:中华医学会电子音像出版社, 2005:54-59.

[7] 向华,侯晓华.多巴胺及其受体与胃黏膜保护[J]. *世界华人消化杂志*, 2003, 11(12):1997-1999.

[8] Reddy BM, Reddy ANS, Nagaraja T, Bhaskaret LVKS, Singh HP, Naidu VM, et al. Anthropological perspective of the single nucleotide polymorphisms in the NPY and DRD2 genes among the socio-economically stratified populations of Andhra Pradesh, India [J]. *Int J Hum Genet*, 2007, 7(4):277-284.

[9] Zuckerman M. The psychobiological model for impulsive unsocialized sensation seeking: a comparative approach [J]. *Neuropsychobiology*, 1996, 34(3):125-129.

[10] 张劲松,许积德,沈理笑. Carey 的1个月~12岁儿童气质系列问卷的应用评价 [J]. *中国心理卫生杂志*, 2000, 14(3):153-156.

[11] Rothbart MK, Chew KH, Gartstein MA. Assessment of temperament in early development [M]// Zeskind PS. *Biobehavioral assessment of the infant*. New York: Guilford Press, 2001:190-208.

[12] McAllister TW, Rhodes CH, Flashman LA, McDonald BC, Beltoni D, Saykin AJ. Effect of the Dopamine D2 receptor T allele on response latency after mild traumatic brain injury [J]. *Am J Psychiatry*, 2005, 162(9):1749-1751.

[13] Sander T, Ladehoff M, Samochowiec J, Finckh U, Rommelspacher H, Schmidt LG. Lack of allelic association between polymorphisms of the dopamine D2 receptor gene and alcohol dependence in the German population [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 1999, 23(4):578-581.

[14] Shaikh KJ, Naveen D, Murthy A, Sherrin T, Thenmarasu K, Anand A, et al. Polymorphisms at the DRD2 locus in early-onset alcohol dependence in the Indian population [J]. *Addict Biol*, 2001, 6(4):331-335.

[15] Elovainio M, Jokela M, Kivimäki M, Pulkki-Raback L, Lehtimäki T, Airta N, et al. Genetic variants in the DRD2 gene moderate the relationship between stressful life events and depressive symptoms in adults: cardiovascular risk in young finns study [J]. *Psychosom Med*, 2007, 69(5):391-395.

[16] Noble EP, Ozkaragoz TZ, Ritchie TL, Zhang X, Belin TR, Sparkes RS. D2 and D4 dopamine receptor polymorphisms and personality [J]. *Am J Med Genet*, 1998, 81(3):257-267.

[17] Burt SA, McGue M, Iacono W, Comings D, MacMurray J. An examination of the association between DRD4 and DRD2 polymorphisms and personality traits [J]. *Pers Individ Dif*, 2002, 33(6):849-859.

[18] Nyman ES, Loukola A, Varilo T, Ekelund J, Veijola J, Joukamaa M, et al. Impact of dopamine receptor gene family on temperament traits in a population-based birth cohort [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2009, 150B(6):854-865.

[19] Montag C, Buckholz JW, Hartmann P, Merz M, Burk C, Hennig J, et al. COMT genetic variation affects fear processing: physiological evidence [J]. *Behav Neurosci*, 2008, 122(4):901-909.

[20] Wiebe SA, Espy KA, Stopp C, Respass J, Stewart P, Jameson TR, et al. Gene-environment interaction across development: exploring DRD2 genotype and prenatal smoking effects on self-regulation [J]. *Dev Psychol*, 2009, 45(1):31-44.

(本文编辑:黄 榕)