

儿童注意力缺陷多动障碍与 ABO 血型基因的关联

国献素¹,焦保权²,徐通³

(1. 第四军医大学附属第 260 医院儿科,河北 石家庄 050043;
2. 白求恩国际和平医院生育遗传科,河北 石家庄 050081; 3. 第二军医大学长征医院儿科,上海 200003)

[摘 要] 目的 探讨儿童注意力缺陷多动障碍(ADHD)与 ABO 血型基因的关联趋势。方法 应用玻片法检测 96 名 ADHD 儿童及其父母的血型,聚合酶链反应-限制性片段长度多态性检测血型的 O 基因。同时应用基于单体型的单体型相对风险分析患者组与父母内对照组,进行传递不平衡检验和卡方检验。结果 ①96 名患者与父母内对照组 ABO 血型基因传递不平衡检验得出 $\chi^2=6.017,df=2,P<0.05$ 。②父母 A 和 B 基因传递情况单独进行卡方检验得出 $\chi^2=3.289,df=1,P=0.07$,父母 O 与 B 基因传递情况比较, $\chi^2=3.629,df=1,P=0.057$ 。患者中 O、A 基因明显多于 B 基因,差异接近显著性。结论 ABO 血型基因与儿童 ADHD 有一定的关联趋势。O、A 基因可增加 ADHD 的患病危险性,B 基因可减少本病的危险性。 [中国当代儿科杂志,2009,11(5):371-373]

[关键词] 注意缺陷多动障碍;多巴胺-β-羟化酶;基因;ABO 血型;儿童
[中图分类号] R748 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)05-0371-03

Correlation between ABO blood type gene and attention-deficit hyperactivity disorder in children

GUO Xian-Su, JIAO Bao-Quan, XU Tong. Department of Pediatrics, 260th Hospital Affiliated to the Forth Military Medical University, Shijianzhuang 050047, China (Jiao B-Q, Email: jiaobq@163.com)

Abstract: Objective To investigate the correlation between ABO blood type gene and attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) in children. **Methods** ABO blood types were determined using glass sheet method in 96 children with ADHD and their parents. O gene was identified using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism in patients with A or B blood type. Haplotype-based haplotype relative risk (HHRR), transmission-disequilibrium test (TDT) and Chi-square test were used to examine the association between ABO gene and ADHD. **Results** TDT results showed significant differences in the allele of ABO between the 96 children with ADHD and within-family controls($\chi^2=6.017,df=2,P<0.05$). Chi-square test results showed differences in the allele of A and B ($\chi^2=3.289,df=1,P=0.07$) as well as O and B ($\chi^2=3.629,df=1,P=0.057$) between ADHD children and within-family controls. The frequencies of O and A genes were higher than that of B gene in ADHD children. **Conclusions** There was correlation between ABO blood type gene and ADHD in children. The risk of ADHD is increased in the presence of alleles O and A, but the risk is reduced in the presence of allele B. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (5):371-373]

Key words: Attention-deficit hyperactivity disorder; Dopamine beta hydroxylase; Gene; ABO blood type; Child

儿童注意力缺陷多动障碍(attention-deficit hyperactivity disorder,ADHD)是学龄期儿童最常见的一种心理行为障碍。该病发病率较高,在儿童期达3%~5%^[1]。对个人、家庭及社会影响很大。该病病因十分复杂,主要受遗传、环境、心理等因素的影响。目前认为遗传在 ADHD 的发病中,占有重要地位,是多基因遗传病。多巴胺-β-羟化酶(dopamine beta hydroxylase, DβH)是由多巴胺-β-羟化酶基因(DBH)编码的。DBH 是最近研究 ADHD 的相关热

点基因之一。多数研究认为 DBH 与 ADHD 有关联^[2,3],DBH 与 ABO 血型基因同在 9 号染色体长臂 3 区 4 带,紧密连锁,而 ABO 检测简单、方便,有望作为 ADHD 致病基因研究的筛查方法。本实验研究 ABO 血型的基因型与 ADHD 的关联,试图用 ABO 血型表征来筛查 ADHD,为进一步诊断 ADHD 提供帮助。

[收稿日期]2008-08-25;[修回日期]2008-10-14
[作者简介]国献素,女,硕士,主治医师。主攻方向:儿童保健及新生儿。
[通讯作者]焦保权,男,硕士,主治医师,白求恩国际和平医院。邮编:050081。

1 对象与方法

1.1 研究对象

ADHD 组: 96 例 ADHD 患者, 均为 2004 年 11 月至 2005 年 8 月第二军医大学上海长征医院儿科 ADHD 专科门诊就诊的 ADHD 患儿, 男 79 例, 女 17 例, 年龄 6 岁 3 个月至 17 岁 8 个月。ADHD 符合美国精神疾病诊断统计手册第 4 版 (DSM-IV) 的 ADHD 诊断标准。并排除儿童精神分裂症、情感障碍、孤独症、癫痫、肝豆状核变性, 风湿性舞蹈病, 甲状腺机能亢进等其他器质性疾病。韦氏儿童智力检查 IQ 值智商 82 ~ 133 分。家系内对照组: 患者父母 ABO 血型的基因型去除患者的基因型获得 (与受试者签订了知情同意书)。

1.2 标本采集及 DNA 抽提

对两组研究对象抽取静脉血 2 mL (EDTA 抗凝), 用碘化钾、氯仿、异戊醇方法提取 DNA。

应用家系内对照的方法进行传递不平衡检验, 需知患者与父母的血型基因型。由于亲代的 A, B, O 基因可稳定地传递给子代, 严格遵循孟德尔遗传规律, 因此, 根据患者及父母血型, 可互相推断部分血型的基因型。如果为 O 型, 患者血型可知含有两个 O 基因, 如为 AB 型, 即含有 A, B 两个基因。如为 A 或 B 型, 需进一步明确其为 AO 还是 AA; 是 BO 还是 BB 型, 需用 PCR-RFLP 技术检测 A 及 B 型血患者的基因型, 即检测这些人 DNA 中是否含有 O 基因。

1.3 O 基因的检测

PCR 正向和反向引物序列为: 正向 5'-CAC-CGTGGAAGGATGTCCTC-3', 反向 5'-AATGTCCA-CAGTCACTCGCC-3'。反应体积为 10 μ L; 其中基因组 DNA 250 ng, 各引物浓度为 20 pmol/L, dNTPs 200 μ mol/L, MgCl₂ 2 mmol/L, Tris-HCl (pH 9.0) 10 mmol/L, KCl 50 mmol/L, Kpn I 酶 1 U。PTC-200 扩增仪, 96℃ 预变性 2 min; 90℃ 1 min、60℃ 1 min、70℃ 1.5 min, 共 30 个循环; 60℃ 最终延伸 30 min。

酶切反应: 10 μ L 体系中加入 4 μ L PCR 产物和 10 U Kpn I 酶于 37℃ 酶切过夜, 取 3 μ L 酶切产物经 6% 丙稀酰胺尿素变性胶 600 V 电泳分离, 银染观察。O 基因 PCR 产物全长 199 bp, 经 Kpn I 酶切为 171 和 28 bp 两条片段。A 或 B 基因 PCR 产物全长 200 bp, 不能被 Kpn I 酶切, 保持 200 bp。依此判断是否携带隐性的 O 基因, 以区分 A 表型中 AA 和 AO 基因型, B 表型中 BB 和 BO 基因型。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件进行 χ^2 检验, 数据做 Hardy-Weinberg 定律吻合度检验, 核心家系的关联分析使用传递不平衡检验 (transmission disequilibrium test, TDT) 和基于单体型的单体型相对危险度 (haplotype-based haplotype relative risk, HHRR) 检测 ABO 基因与 ADHD 的关联。

2 结果

本实验共有 96 个患者和 170 个父母亲。患者及父母亲均符合 Hardy-Weinberg 平衡, 父母与患者进行传递不平衡检验。

未传递组 B 型明显增多, 而传递组 O, A 明显增多, 差异有显著性, $P < 0.05$ 。传递与非传递组两两比较结果如下: 父母 A 和 B 基因传递情况单独进行卡方检验, $\chi^2 = 3.289, df = 1, P = 0.07$ 。O 与 B 基因比较, $\chi^2 = 3.629, df = 1, P = 0.057$ 。O 与 A 基因比较, $\chi^2 = 0.079, df = 1, P = 0.779$ (表 1)。

表 1 父母血型传递情况分布

	O	A	B	合计
传递组	105	39	26	170
未传递组	96	33	41	170

注: 两组比较, $\chi^2 = 6.017, df = 2, P < 0.05$

3 讨论

ADHD 的症状多种多样, 经常变化, 归因于任何一个基因都有疑问。所以, ADHD 归因于多个基因的多态性改变, 是一种多基因遗传病。在 ADHD 的发病中, 遗传因素总的贡献大约在 80% 左右。目前, 至少已研究了 20 个基因可能与 ADHD 相关联, DBH 是其中的一个。

DBH 是多巴胺代谢过程中的关键酶之一, 可将多巴胺氧化为去甲肾上腺素, 是去甲肾上腺素合成的限速酶。DBH 基因位于第 9 号染色体的 135491306 至 135514287, 而 ABO 血型在其上游, 位于 135120384 至 135140451, 相距 350855 bp, 遗传距离仅 1.3 cm, 紧密连锁, 重组机率低。ABO 血型检测方便, 节约资金。本次实验采用 ABO 血型间接反应 DBH 与 ADHD 的关联趋势。

ABO 基因有 A, B, O 三个等位基因, 本次实验对患者及其父母血型等位基因传递平衡性进行了检验。由于 O, AB 型血的基因型比较明确, 而 A, B 型

血的基因型不明确,为了明确它们的基因型,仅需明确 A,B 型血型中是否含有 O 基因。因 O 基因缺失第 261 位核苷酸(G),据此,设计出两个引物。经过 PCR-RFLP 过程,判断是否含有 O 基因。然后根据孟德尔遗传规律,判断传递结果,传递不平衡性检验提示:ABO 基因与 ADHD 关联显著($P < 0.05$)。DBH 与 ABO 基因之间的遗传距离仅 1.3 cm,紧密连锁,ABO 基因与 ADHD 关联显著,可以推断 ADHD 与 DBH 有一定相关性。

本研究以家系内对照的方法调查了儿童 ADHD 与 ABO 血型基因的关联。患者与父母传递不平衡检验结果提示:存在传递不平衡,且有显著性差异($P < 0.05$)。患者中 O,A 基因明显多于 B 基因(P 值分别为 0.057、0.07),差异接近于显著性。ADHD 是一个多基因遗传病,临床表现多种多样,又有遗传异质性,所以,得出结果不一定都有显著性。以上结果可以说明 ABO 与 ADHD 有关联趋势,提示 ADHD 与 DBH 也有关联趋势。

精神分裂症在病因方面与 ADHD 有许多类似之处,均属于多基因遗传病,在相关基因方面,有很多相同之处。比如:都和许多儿茶酚胺类相关基因有关。精神分裂症与血型的关联研究已较深入^[4,5]。而 ADHD 与血型的关联,国内外尚未见报

道。而 ABO 血型检测方便,消耗少,本研究采用患者与父母内对照组传递不平衡检验,结果提示,ABO 血型与 ADHD 有一定的关联趋势。该方法尚处于探索阶段,要想作为 ADHD 的基因诊断的筛查,还需大样本、在不同地区、不同人群进一步研究,综合分析,为 ADHD 的诊断及指导治疗提供帮助。

[参 考 文 献]

[1] Biederman J, Faraone SV, Spencer T, Wilens T, Norman D, Lapey KA, et al. Patterns of psychiatric comorbidity, cognition, and psychosocial functioning in adults with attention deficit hyperactivity disorder[J]. Am J Psychiatry,1993, 150(12): 1792-1798.

[2] Bellgrove MA, Mattinquelev JB, Hawi Z, Mullins C, Kirley A, Gill M, et al. Impaired temporal resolution of visual attention and dopamine beta hydroxylase genotype in attention-deficit/hyperactivity disorder[J]. Biol Psychiatry, 2006, 60(10):1039-1045.

[3] Bhaduri N, Sinha S, Chattopadhyay A, Gangopadhyay PK, Singh M, Mukhopadhyay KK. Analysis of polymorphisms in the dopamine Beta hydroxylase gene: association with attention deficit hyperactivity disorder in Indian children[J]. Indian Pediatr, 2005, 42(2):123-129.

[4] 杜本丽,黄秀娟.精神分裂症 ABO 血型调查[J].临床精神医学杂志, 2002, 12(1):25.

[5] 翁志霞.精神分裂症与血型等因素的相关分析[J].临床精神医学杂志, 2001, 11(5):278-279.

(本文编辑:吉耕中)