出生前营养不良致子代易感精神分裂症研究进展

徐飞, 王璐, 贺光, 贺林, 沈陆*, 吴茜*

上海交通大学Bio-X研究院, 上海 200030

* 联系人, E-mail: yoyomailer@sjtu.edu.cn; wuxi0901@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2017-02-03; 接受日期: 2017-03-15; 网络版发表日期: 2017-04-17

精神分裂症是一类非常严重的精神疾病, 临床上常伴随有情感、认知、行为等障碍^[1], 常发病于青壮年时期(15~35岁). 患者占据了全球将近1%的人口, 而男性患者多于女性患者(1.4:1)^[2], 有明显的自杀倾向^[3], 并且往往预后不良. 目前对精神分裂症的诊断都是基于量表, 国际通用精神分裂症的量表常采用美国精神病学学会DSM-V(diagnostic and statistical manual of mental disorders, five edition).

对精神分裂症的病因进行探究, 发现它是一种由遗传和环境共同作用的复杂疾病, 其分子机制尚不清楚. 研究人员提出了一系列假说试图解释这种疾病的产生, 其中神经发育假说是目前普遍被大家接受的, 它认为个体发育早期(胚胎期及出生后), 不良的遗传因素和环境因子相互作用, 使得神经系统发育异常, 随着生长发育, 机体易受到外在或内在因子的触发, 从而导致精神分裂症发作, 而表现出症状的时候已经发展为疾病的中后期^[4]. 寻找易感遗传基因是精神分裂症致病机制探究中主流的方向, 常用的方法是基于大样本的病例-对照关联分析^[5], 病例组和对照组选取无亲缘关系的人群, 并且保证两组间性别、年龄和背景匹配, 通过特定的遗传标记, 如单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)来评估等位基因或基因型频率是否存在差异.

出生前的营养不良与精神分裂症的关联研究便

是基于这一假说, 胚胎期是一个对外界环境非常敏感的时期, 当胎儿处于不利的外界环境时, 为了能适应存活下来, 需要改变自身的代谢模式, 从而将信息传递遗传因子, 通过调节基因的表达来对环境做出应答^[6], 而这种调节方式一般认为是表观修饰. 本文将系统阐述出生前营养不良所导致的子代易感精神分裂症近期的研究进展.

1 流行病学研究

最早建立孕期营养不良与精神分裂症关系的是对荷兰饥荒(1944~1945年)的流行病学研究, 他们发现, 在胚胎发育早期经历过饥荒的人群成年后患精神分裂症的相对风险是正常人的2倍^[7]. 这个结果在中国饥荒人群中得到了验证, 本研究院收集了1959~1961年在胚胎期经历过饥荒的样本, 来自安徽芜湖地区的数据统计显示饥荒组患精神分裂症的相对风险(死亡率校正后)如下: 1960年出生的为2.30, 1961年出生的为1.93^[8]. 之后类似的结果又在广西柳州地区再次得到验证^[9].

饥荒是一种低蛋白低能量的饮食, 包含各种必需营养元素的全面匮乏, 那么到底是哪些营养元素与精神分裂症有直接或间接的联系? 研究发现, 叶酸不足与神经管的缺陷有关, 而神经管的缺陷与精神分裂症密切相关^[10], 进一步分析发现精神分裂症患者的血清

引用格式: 徐飞, 王璐, 贺光, 等. 出生前营养不良致子代易感精神分裂症研究进展. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 409~413, Xu F, Wang L, He G, et al. Progress in study of prenatal malnutrition as a risk factor for schizophrenia. Sci Sin Vitae, 2017, 47: 409~413, doi: 10.1360/N052017-00079

叶酸水平要显著低于正常人群^[11,12]。另外, 不饱和脂肪酸^[13]、维生素A^[14]、维生素D^[15]、铁离子^[16]、蛋白质能量营养缺乏^[17]都被分别报道与精神分裂症相关联。同时, 出生前营养不良的个体成年后往往伴随着其他的一些慢性疾病, 如冠心病^[18]、糖尿病^[19]、高血压^[20]等代谢病。

2 动物模型

由于人的饥荒样本很难得到, 并且环境干扰因素很多, 如出生后的压力所导致的精神分裂症, 对流行病学的研究就造成一定程度的干扰, 因此研究人员建立了出生前营养不良的鼠模型来研究其中的生物学机制。由于哺乳动物的大脑早期发育分化过程很类似, 所以鼠模型能为研究精神分裂症发病机制提供很好的理论基础。

在雌性大鼠(*Rattus norvegicus*)孕前1~2个月给予低蛋白饲料直至子代出生(PPD模型(prenatal protein deprivation model)) (图1), 发现子代在动物行为、神经形态学、神经递质和电生理方面都有异常变化, 表现为学习记忆能力下降^[21]、前脉冲抑制受损^[22]、海马区的齿状回颗粒细胞变小、树突分支降低^[23]。另外, 这种出生前蛋白质缺乏的大鼠与NMDA受体的结合增加^[22], 海马区和前额叶皮层细胞外多巴胺水平显著降低^[24]。孕期的低蛋白饮食也导致胎儿的生长迟缓、髓鞘形成缺陷, 转录谱分析发现少突胶质细胞和小胶质细胞中神经免疫和细胞周期相关基因表达异常^[25]。

在PPD的基础上通过限制饮食的量可以进一步得到低蛋白低能量的大鼠模型: 从孕期0.5天开始直至第19天分娩, 重度缺乏蛋白组(RLP50)每天给予低蛋白组50%的饲料, 子代出生后均正常饮食。本研究组之前的多单位联合研究通过对RLP50组子代大鼠的前额

叶皮层和海马的基因表达谱分析, 发现子代大鼠前额叶皮层在神经递质和嗅觉相关的基因表达有差异, 海马区则是在突触功能和转录调节上存在显著差异。海马的DNA甲基化谱显示, 大范围的甲基化改变(87%为过甲基化), 其中最显著的是编码质膜的基因, 同时在表达谱上也是差异表达^[26]。另外, 通过对孕期大鼠羊水的代谢组学和金属组学分析得到, 叶酸循环和甲硫氨酸通路、单胺通路、三碘甲状腺氨酸(3,5,3'-triiodothyronine, T3)代谢异常^[27]。促炎细胞因子TNFA与IF6在RLP50组中胎盘、胎儿的大脑和肝脏中均表达异常, 这就提示免疫系统的紊乱可能也参与了精神分裂症的发生^[28]。

3 环境对胚胎的影响及其作用机制

哺乳动物的胚胎发育包含一系列重要阶段: 受精、卵裂形成囊胚、受精卵着床、原肠胚时期、器官形成等。在形成原始生殖细胞时, 为了保持全能性, 细胞经历了一次全面的DNA甲基化清除, 之后又重新从头甲基化成为成熟的配子, 这个过程中卵子开始甲基化的时间要晚于精子。配子融合后, 受精卵再一次去甲基化, 父源DNA迅速主动去甲基化, 母源DNA随着DNA的复制被动去甲基化。而印记基因能逃脱这次的去甲基化过程, 保留自己甲基化特征。在胚胎植入后, 细胞又重新甲基化^[29]。在这个表观重塑的过程中, 要想表观的标记得以遗传, 它们应该像印记基因一样能逃脱去甲基化的过程。很多研究报道指出, 除了印记基因, 重复元件如反转录转座子^[30], 还有约100个非印记非重复基因的启动子区域^[31]都能在第二次去甲基化过程中保留自身的甲基化水平。除了DNA甲基化和去甲基化外, 染色质也发生重塑, 人类精子形成过程中, 85%~96%的组蛋白被鱼精蛋白替代。组蛋白修饰水平也在胚胎发育期波动, 核心组蛋白H3第4位赖氨酸三甲基化(H3K4me3)和核心组蛋白H3第27位赖氨酸三甲基(H3K27me3)是被研究较多的两个对象。经典的H3K4me3在富含CpG的启动子区域呈高水平峰状分布, 而在成熟的卵母细胞中, H3K4me3呈低水平广泛分布状态, 到了两细胞胚胎阶段才开始慢慢恢复经典状态。而精子的H3K4me3在受精时被擦除, 到两细胞胚胎阶段才恢复。同样, 经典的H3K27me3分布也是富集在启动子区域, 受精时父本的H3K27me3被擦除, 母本启动子远端的被保留, 启动子区域的H3K27me3

图1 PPD模型(网络版彩图)

U: undernutrition, 低蛋白组; C: control, 正常组

同样被擦除,直到胚胎着床才恢复经典的H3K27me3分布(图2)^[32].

当胚胎处于不利的环境时,就会增加流产的风险.胎盘是母体与胎儿交换物质的器官,荷兰饥荒数据显示,孕期营养条件对胎盘与胎儿重量至关重要.在孕后期的3个月经历饥荒的母亲胎盘和胎儿的重量均低于正常组,相反,在孕前期的3个月经历饥荒的母亲与未经历饥荒的母亲相比,胎盘重量增加,胎儿体重不变,胎盘的这种过度生长很可能是为了提高物质的利用效率,来补偿胎儿的生长需要^[33].另外,拥有不利营养条件的胎儿经常伴随着一些先天性的缺陷,常见的有神经管闭合缺陷^[34]、先天性的脊柱侧凸^[35],其成年后又往往有更大的患精神疾病和代谢疾病的风险.

在流行病学和动物模型的研究中,发现环境能影响生物的表型,越来越多的证据显示表观遗传是这二者联系的桥梁.当外界环境改变时,通过表观标记的变化,调节基因的表达,从而产生相应的表型.特别在生命的早期,细胞可塑性极强的情况下,更容易受到表观遗传的调节. Heijmas研究组^[36]对荷兰饥荒的样本进行了系统的表观遗传学研究,首先发现胰岛素生长因子 $IGF2$ 的甲基化水平比正常人要低;之后鉴定了15个与代谢疾病相关位点的甲基化水平发现,甲基化的差异与性别有关, LEP , $INSIGF$ 的甲基化差异仅限于

男性饥荒人群, $GNASAS$ 的甲基化差异在女性饥荒人群中更为显著^[37].最后进行了全基因组的DNA甲基化水平的差异分析,鉴定了181个差异甲基化位点,这些位点主要富集在生长和代谢通路^[38].基于表观遗传的提示,研究人员研究了孕期营养不良产生的子代表型能否延续到下一代.2014年,*Science*报道了一个模拟孕期营养不良的小鼠模型,发现 F_1 代的糖尿病能传递到 F_2 代, F_1 代出现了166个差异甲基化位点,但是 F_2 代却没有检测到这些差异位点^[39].虽然甲基化作为跨世代遗传的载体证据不足,但其他的表观遗传模型显示小RNA^[40]、组蛋白修饰^[41]也可作为表观遗传的信息载体.

那么环境是如何将信息传递到生殖细胞呢?以气味刺激恐惧的小鼠模型为例,通过电击来使雄鼠对某种气味产生恐惧,即使是体外受精,小鼠的这种气味恐惧能延续好几代,也就是说这种恐惧记忆是通过大脑传递到了精子^[42].在机体中存在血睾屏障,大部分的物质很难通过.有证据显示,小的非编码RNA能穿过血睾屏障,将信息由体细胞传递到生殖细胞,通过细胞外的囊泡结构运输RNA来实现细胞间的交流^[43].胚胎发育初期营养物质来源于卵黄,后期胎儿通过胎盘从母体血液获取氧气和养料,当母体营养供应不足时,猜测营养不足的信号也可能通过RNA或者一些

图2 小鼠(*Mus musculus*)胚胎发育期组蛋白甲基化重排

红色表示经典分布,即启动子区域高水平甲基化,绿色表示启动子区域低甲基化,橙色表示远端高甲基化,启动子低甲基化.

PGC: primordial germ cell, 原始生殖细胞

转录因子来传递。

2016年11月30日, 两位生物学家对表观遗传在细胞命运的决定作用展开了一场辩论(<http://www.biodiscover.com/news/celebrity/651101.html>), 这也代表了目前的两种主流观点: DNA是遗传的基础, 但是细胞的分化是由转录因子还是表观遗传主导, 一方认为染色质对转录具有天然阻碍作用, 即使有转录因子结合,

没有表观的调控基因仍不能被激活; 而另一方则认为表观遗传对细胞命运的作用被过分强调。与之相应的, 虽然很多实验数据提示了表观遗传的重要性, 但是目前很少能得到与获得性性状共分离的表观遗传标记。另外, 动物模型都集中在精子的表观遗传, 卵子的表观遗传受到其宫内环境的影响较少被涉及, 需要研究者后续不断开拓新技术和新方法, 来打破这些瓶颈。

参考文献

- Andreasen N C. Symptoms, signs, and diagnosis of schizophrenia. *Lancet*, 1995, 346: 477–481
- Tsuang M. Schizophrenia: genes and environment. *Biol Psychiatry*, 2000, 47: 210–220
- Pinikahana J, Happell B, Keks N A. Suicide and schizophrenia: a review of literature for the decade (1990–1999) and implications for mental health nursing. *Issues Ment Health Nurs*, 2003, 24: 27–43
- Catts V S, Fung S J, Long L E, et al. Rethinking schizophrenia in the context of normal neurodevelopment. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7: 60
- Niu W, Huang X, Yu T, et al. Association study of GRM7 polymorphisms and schizophrenia in the Chinese Han population. *Neurosci Lett*, 2015, 604: 109–112
- Vaag A A, Grunnet L G, Arora G P, et al. The thrifty phenotype hypothesis revisited. *Diabetologia*, 2012, 55: 2085–2088
- Susser E, Neugebauer H W, Hoek A S, et al. Schizophrenia after prenatal famine. *Arch Gen Psychiatry*, 1996, 53: 25
- St Clair D, Xu M, Wang P, et al. Rates of adult schizophrenia following prenatal exposure to the Chinese famine of 1959–1961. *JAMA*, 2005, 294: 557
- Xu M Q, Sun W S, Liu B X, et al. Prenatal malnutrition and adult schizophrenia: further evidence from the 1959–1961 Chinese famine. *Schizophr Bull*, 2009, 35: 568–576
- Czeizel A E, Dudas I, Vereczkey A, et al. Folate deficiency and folic acid supplementation: the prevention of neural-tube defects and congenital heart defects. *Nutrients*, 2013, 5: 4760–4775
- Mabrouk H, Douki W, Mechri A, et al. Hyperhomocysteinemia and schizophrenia: case control study. *Encephale*, 2011, 37: 308–313
- Kim T H, Moon S W. Serum homocysteine and folate levels in Korean schizophrenic patients. *Psychiatry Investig*, 2011, 8: 134
- Morgese M G, Trabace L. Maternal malnutrition in the etiopathogenesis of psychiatric diseases: role of polyunsaturated fatty acids. *Brain Sci*, 2016, 6: 24
- Bao Y Y, Ibram G, Blamer W S, et al. Low maternal retinol as a risk factor for schizophrenia in adult offspring. *Schizophr Res*, 2012, 137: 159–165
- Chiang M, Natarajan R, Fan X. Vitamin D in schizophrenia: a clinical review. *Evid Based Mental Health*, 2016, 19: 6–9
- Sørensen H J, Nielsen P R, Pedersen C B, et al. Association between prepartum maternal iron deficiency and offspring risk of schizophrenia: population-based cohort study with linkage of Danish national registers. *Schizophr Bull*, 2011, 37: 982–987
- Palmer A A, Brown A S, Keegan D, et al. Prenatal protein deprivation alters dopamine-mediated behaviors and dopaminergic and glutamatergic receptor binding. *Brain Res*, 2008, 1237: 62–74
- 劳林江, 章丽燕, 杜立中. 生命早期营养不良与成年期心血管功能的关系. *浙江大学学报(医学版)*, 2015, 44: 349–353
- de Rooij S R, Roseboom T J, Painter R C. Famines in the last 100 years: implications for diabetes. *Curr Diab Rep*, 2014, 14: 536
- Banegas J R. Mass starvation in early life and adult hypertension in China. *J Hypertens*, 2017, 35: 29–32
- Pérez-García G, Guzmán-Quevedo O, Da Silva Aragão R, et al. Early malnutrition results in long-lasting impairments in pattern-separation for overlapping novel object and novel location memories and reduced hippocampal neurogenesis. *Sci Rep*, 2016, 6: 21275
- Palmer A A, Printz D J, Butler P D, et al. Prenatal protein deprivation in rats induces changes in prepulse inhibition and NMDA receptor binding. *Brain Res*, 2004, 996: 193–201
- Diáz-Cintra S, Cintra L, Galván A, et al. Effects of prenatal protein deprivation on postnatal development of granule cells in the fascia dentata. *J Comp Neurol*, 1991, 310: 356–364
- Mokler D J, Torres O I, Galler J R, et al. Stress-induced changes in extracellular dopamine and serotonin in the medial prefrontal cortex and dorsal hippocampus of prenatally malnourished rats. *Brain Res*, 2007, 1148: 226–233

- 25 Rideau Batista Novais A, Pham H, Van de Looij Y, et al. Transcriptomic regulations in oligodendroglial and microglial cells related to brain damage following fetal growth restriction. *Glia*, 2016, 64: 2306–2320
- 26 Xu J, He G, Zhu J, et al. Prenatal nutritional deficiency reprogrammed postnatal gene expression in mammal brains: implications for schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2015, 18: pyu054–pyu054
- 27 Shen Q, Li X, Qiu Y, et al. Metabonomic and metallomic profiling in the amniotic fluid of malnourished pregnant rats. *J Proteome Res*, 2008, 7: 2151–2157
- 28 Shen Q, Li Z Q, Sun Y, et al. The role of pro-inflammatory factors in mediating the effects on the fetus of prenatal undernutrition: implications for schizophrenia. *Schizophr Res*, 2008, 99: 48–55
- 29 Nagy C, Turecki G. Transgenerational epigenetic inheritance: an open discussion. *Epigenomics*, 2015, 7: 781–790
- 30 Molaro A, Hodges E, Fang F, et al. Sperm methylation profiles reveal features of epigenetic inheritance and evolution in primates. *Cell*, 2011, 146: 1029–1041
- 31 Borgel J, Guibert S, Li Y, et al. Targets and dynamics of promoter DNA methylation during early mouse development. *Nat Genet*, 2010, 42: 1093–1100
- 32 朱卫国. 胚胎发育的精细表观遗传调控. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 1449
- 33 Lumey L H. Compensatory placental growth after restricted maternal nutrition in early pregnancy. *Placenta*, 1998, 19: 105–111
- 34 Martiniova L, Field M S, Finkelstein J L, et al. Maternal dietary uridine causes, and deoxyuridine prevents, neural tube closure defects in a mouse model of folate-responsive neural tube defects. *Am J Clin Nutr*, 2015, 101: 860–869
- 35 Li Z, Yu X, Shen J. Environmental aspects of congenital scoliosis. *Environ Sci Pollut Res*, 2015, 22: 5751–5755
- 36 Heijmans B T, Tobi E W, Stein A D, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 17046–17049
- 37 Tobi E W, Lumey L H, Talens R P, et al. DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum Mol Genet*, 2009, 18: 4046–4053
- 38 Tobi E W, Goeman J J, Monajemi R, et al. DNA methylation signatures link prenatal famine exposure to growth and metabolism. *Nat Commun*, 2014, 5: 5592
- 39 Radford E J, Ito M, Shi H, et al. In utero undernourishment perturbs the adult sperm methylome and intergenerational metabolism. *Science*, 2014, 345: 1255903–1255903
- 40 Stuwe E, Tóth K F, Aravin A A. Small but sturdy: small RNAs in cellular memory and epigenetics. *Genes Dev*, 2014, 28: 423–431
- 41 Öst A, Lempradl A, Casas E, et al. Paternal diet defines offspring chromatin state and intergenerational obesity. *Cell*, 2014, 159: 1352–1364
- 42 Dias B G, Ressler K J. Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nat Neurosci*, 2013, 17: 89–96
- 43 Eaton S A, Jayasooriah N, Buckland M E, et al. Roll over Weismann: extracellular vesicles in the transgenerational transmission of environmental effects. *Epigenomics*, 2015, 7: 1165–1171