

## 双相抑郁患者失眠相关执行功能损害与 NR2B 基因启动子区甲基化水平的关系

余浩<sup>1,2</sup> 肖玉新<sup>1</sup> 邹韶红<sup>2</sup>

**【摘要】目的** 探讨 N-甲基-D-天冬氨酸受体 2B 亚基 (N-methyl-D-aspartate receptor 2B subunit, NR2B) 基因启动子甲基化水平与双相抑郁患者失眠相关执行功能损害的相关性。**方法** 选取双相抑郁患者 31 例及健康对照 16 例, 采用斯特鲁普色词测验 (Stroop Color and Word Test, SCWT) 测定受试者的执行功能, 并测定所有受试者外周血 NR2B 基因启动子区甲基化水平, 采用偏相关分析其与双相抑郁患者失眠相关执行功能损害的相关性以及二元 Logistics 回归分析其与双相抑郁患者失眠症状的关联。**结果** CpG10 甲基化率与 SCWT 单词及颜色个数呈中度正相关 ( $P < 0.05$ ), CpG6 甲基化率与 SCWT 色词个数呈中度正相关 ( $P < 0.05$ )。汉密尔顿抑郁量表评分与位点 CpG9 甲基化水平的升高为双相抑郁患者失眠症状的危险因素 ( $P < 0.05$ )。**结论** NR2B 基因启动子区甲基化水平异常可能介导双相抑郁患者失眠症状的产生并与失眠相关执行功能受损有关。

**【关键词】** 双相抑郁; N-甲基-D-天冬氨酸受体 2B 亚基; DNA 甲基化; 失眠; 执行功能

**【中图分类号】** R749.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-2952 (2026) 01-0073-05

### Relationship between insomnia-related executive function impairment and methylation level of NR2B gene promoter in patients with bipolar depression

YU Hao, XIAO Yuxin, ZOU Shaohong. Department of Clinical Psychology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China

**【Abstract】Objective** To explore the relationship between the methylation level of N-methyl-D-aspartate receptor 2B subunit (NR2B) gene promoter region and insomnia-related executive function impairment in patients with bipolar depression. **Methods** 31 patients with bipolar depression and 16 healthy controls were selected. The executive function of the subjects was measured by Stroop Color Words Test (SCWT). The methylation level of promoter region of NR2B gene in peripheral blood of all subjects was determined. Partial correlation analysis and Binary Logistic regression were used to analyze the correlation between insomnia and executive function impairment in patients with bipolar depression and its association with insomnia in patients with bipolar depression. **Results** The CpG10 methylation rate was moderately positively correlated with the number of words and colors in SCWT ( $P < 0.05$ ). The CpG6 methylation rate was moderately positively correlated with the number of color words in SCWT ( $P < 0.05$ ). The increased Hamilton Depression Scale score and methylation level of CpG9 were risk factors for insomnia in patients with bipolar depression ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Aberrant methylation in the promoter region of the NR2B gene may mediate insomnia in patients with bipolar depression. It may be related to the impairment of executive function related to insomnia.

**【Key words】** Bipolar depression; N-methyl-D-aspartate receptor 2B subunit; DNA methylation; Insomnia; Executive function

睡眠和昼夜节律的紊乱会影响双相障碍 (Bipolar Disorder, BD) 的发生和发展, 且失眠被认为是 BD 发

作的相关跨诊断前因以及潜在治疗靶点<sup>[1-2]</sup>。近期研究发现, 在 BD 患者中, 睡眠障碍和认知障碍之

[基金项目] 1. 天山创新团队计划 (编号: 2022D14011); 2. 新疆维吾尔自治区科技计划项目 (编号: 2022D01C606)。

[作者工作单位] 新疆维吾尔自治区人民医院临床心理科 (乌鲁木齐, 830001)。

[第一作者简介] 余浩 (1998.10-), 男, 河南信阳人, 博士生在读, 研究方向: 双相情感障碍。

[通讯作者] 邹韶红 (Email: zoushaohong@126.com)。

间存在显著关联<sup>[3]</sup>。已有动物实验在小鼠上观察到昼夜节律紊乱与N-甲基-D-天冬氨酸受体2B亚基(N-methyl-D-aspartate receptor 2B subunit, NR2B)在视交叉上核的表达降低有关<sup>[4-5]</sup>。且NR2B基因遗传与认知功能损害密切相关<sup>[6]</sup>。因此,本研究测定双相抑郁患者NR2B启动子DNA甲基化水平,并探讨其与双相抑郁患者失眠相关执行功能损害的关系,以期为双相抑郁患者的早期诊断及临床治疗提供理论依据。

### 1 资料与方法

#### 1.1 研究对象

选取2022年12月—2023年12月我院门诊和住院的31名双相抑郁患者。纳入标准:①符合《精神障碍诊断与统计手册第五版》双相障碍的诊断标准;②由2名精神科副主任医师明确诊断;③年龄在18~60岁,性别、族别不限;④汉密尔顿抑郁量表24项(Hamilton Depression Scale 24, HAMD-24)总分>20分且杨氏躁狂量表(Young Mania Rating Scale, YMRS)评分<7分。根据匹兹堡睡眠质量指数(Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI)将双相抑郁患者分为失眠组(PSQI≥7分)与非失眠组(PSQI<7分)。

同期招募来自医院及社会的健康人群共16名。纳入标准:①由精神科副主任医师评估无精神疾病及家族遗传史;②PSQI<7分。③年龄在18~60岁,性别、族别不限;

所有受试者排除标准:①有严重或慢性躯体疾病史;②有智力残疾;③患有其他精神障碍;④药物、酒精或者其他精神活性物质滥用、依赖者;⑤妊娠、哺乳期及产后妇女;⑥过去6个月接受过电休克、精神科药物及系统心理治疗。

本研究通过新疆维吾尔自治区人民医院伦理委员会审核批准(伦理批号:KY2023020968),所有研究对象自愿参与本研究,本人或其法定监护人签署知情同意书。

#### 1.2 研究方法

##### 1.2.1 一般资料收集

收集所有受试者的年龄、性别、民族、受教育

程度、吸烟饮酒史、身体质量指数(Body Mass Index, BMI),另外收集患者的发病年龄、病程、HAMD-24评分、YMRS评分、汉密尔顿焦虑量表(Hamilton anxiety scale, HAMA)评分。

##### 1.2.2 执行功能测定

采用斯特鲁普色词测验(Stroop Color and Word Test, SCWT)<sup>[7]</sup>评估所有受试者的执行功能,分为三部分,包括单词、颜色及色词,每部分限时45秒,最后统计正确读出的个数,正确反应数用于反映执行功能中的加工速度与抑制控制能力,得分越高表示执行功能相对较好。

##### 1.2.3 DNA提取及亚硫酸氢盐转化

于次日清晨抽取所有受试者空腹外周静脉血5 mL左右放入EDTA抗凝管(BD公司),使用溶液法DNA提取试剂盒(武汉君诺德生物技术有限公司)提取全基因组DNA,质检后置于-80℃保存备用。采用EZ DNA Methylation-Gold™ Kit试剂盒(Zymo Research, 美国)对DNA进行亚硫酸氢钠修饰与纯化,非甲基化的胞嘧啶发生脱氨基反应变成尿嘧啶,甲基化的胞嘧啶则不变。

##### 1.2.4 DNA甲基化测定

采用Massarray质谱法检测甲基化水平。检测片段如图1。经亚硫酸氢盐转化后的DNA进行PCR反应富集扩增,引物采用Agena EpiDesigner程序(<http://www.epidesigner.com>)对靶向序列进行引物方案设计,正向引物序列:5'-aggaagagagTTGATTTATGGAATAATATAGTAAGGGTT-3',反向引物序列:3'-cagtaatacactactatagggagaaggctTCTAAATTTAAATCTCACACTCAAAAA-5'。引物信息及PCR反应程序见表1、表2。由新疆欧意生物科技有限公司合成。随后进行虾碱性磷酸酶消化反应、转录酶切反应及树脂纯化,采用Agena NanodispenserRS1000点样仪(Axygen, 美国)将树脂纯化后的产物移至384-well SpectroCHIP® bioarray(Axygen, 美国)芯片上进行点样。点样后的SpectroCHIP芯片使用MassARRAY Analyzer 4.0质谱

ctgattatggaataacagcaagggtcttcaattCGaactacagctcCG<sup>1</sup>ccttgagatgcttcCG<sup>2</sup>cagccCGCGggcCG<sup>3</sup>ccaCG<sup>4</sup>ggg  
ggcactgtctagctccctCG<sup>5</sup>cccctcagcCGctctcCGtCGgtctgttcccCGctgCGgcCGgaggaggCG<sup>6</sup>ccaCGgactCG<sup>7</sup>ggc  
taagcttctcccccttcCGtcccccttccacccttaccaccccacttccccagcacatgaCG<sup>8</sup>tgggaagctgcctcCG<sup>9</sup>ccagagtcttagcaagag  
gagtgagggggtgcaggggcttgggggtgggggtgggggtgtggagaagaggacaCGCGCG<sup>10</sup>ctcacaccCG<sup>11</sup>cccctgggagca  
gaagcagtatcttccccagcttCGtgggttctctccccCGgagtcagggtgtgCG<sup>12</sup>aggtagggggtgtgtgtctgtgtgtgtgCGCGg  
caCGttttgagtgtagaccaaatccaga

图1 NR2B启动子区检测片段  
注:黄色标注为检测的CpG位点

仪 (Axygen, 美国) 进行基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 分析得出质谱图。通过 Epytyper1.2 软件 (Sequenom) 获得质谱甲基化水平。测定工作由上海欧意生物科技有限公司协助完成。

表1 引物信息

Primer	Start	Size	Tm	GC%	C's
5'端引物	1259	28	58.14	25	4
3'端引物	1755	27	57.06	22	5

表2 PCR反应程序

项目	反应程序					
温度	94 °C	94 °C	56 °C	72 °C	72 °C	4 °C
时间	4 min	20 s	30 s	1 min	5 min	∞
循环数	1	45	45	45	1	1

1.3 统计学方法

使用 SPSS 27.0 对数据进行统计分析。符合正态分布数据, 用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示组间比较采用独立样本 *t* 检验。不符合正态分布, 采用 *M* (*P*<sub>25</sub>, *P*<sub>75</sub>) 描述, 组间比较采

用 Mann-Whitney U。计数资料采用 [*n* (%)] 描述, 组间比较采用 Fisher 确切概率法。采用偏相关分析相关性, 二元 logistic 回归模型分析双相抑郁患者失眠的影响因素, 双侧检验, 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

三组一般资料比较差异均无统计学意义 (*P* > 0.05), 见表 3。

2.2 NR2B 启动子甲基化水平

三组位点 CpG3、CpG7、CpG9、CpG10 甲基化率比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 非失眠组、失眠组 CpG3 及 CpG10 甲基化率高于健康对照组, 失眠组 CpG7 甲基化率低于健康对照组, CpG9 甲基化率高于非失眠组, 差异均具有统计学意义 (*P* < 0.05); 其余位点甲基化率三组间比较差异均无统计学意义 (*P* > 0.05), 见表 4。

2.3 双相抑郁患者失眠相关执行功能损害与 NR2B 甲基化水平的相关性

表3 三组间一般资料比较

项目	健康对照组 (n=16)	非失眠组 (n=7)	失眠组 (n=24)	<i>t</i> / <i>Z</i> / $\chi^2$	<i>P</i>
年龄(岁)	25.00(22.00, 41.25)	27.00(22.00, 36.00)	22.00(19.25, 39.00)	1.896	0.388
受教育年限(年)	16.00(16.00, 16.00)	16.00(15.00, 16.00)	16.00(15.25, 16.00)	0.331	0.847
BMI( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	23.32 ± 4.36	24.18 ± 3.32	23.50 ± 4.43	0.101	0.904
性别(女/男)	12/4	5/4	17/9	0.280	1.000
吸烟史(有/无)	3/13	1/6	5/19	0.212	1.000
饮酒史(有/无)	4/12	1/6	5/19	0.273	1.000

表4 三组间NR2B基因启动子CpG位点水平比较

项目	健康对照组 (n=16)	非失眠组 (n=7)	失眠组 (n=24)	H/F	<i>P</i>
CpG1 (%)	37.90(30.14, 47.67)	22.11(17.02, 41.48)	32.51(23.88, 42.09)	4.296	0.117
CpG2 (%)	44.67 ± 9.39	45.95 ± 16.99	43.07 ± 16.05	0.112	0.895
CpG3 (%)	23.31(12.07, 43.80)	56.47(46.51, 62.34) <sup>a</sup>	51.52(41.13, 60.68) <sup>a</sup>	11.277	0.004
CpG4 (%)	51.09 ± 6.80	47.41 ± 11.99	52.65 ± 13.16	0.498	0.617
CpG5 (%)	35.42 ± 15.09	44.77 ± 6.77	44.10 ± 11.89	2.284	0.126
CpG6 (%)	45.51(34.40, 47.39)	37.44(29.19, 49.20)	43.95(29.19, 49.20)	0.358	0.836
CpG7 (%)	50.70 ± 10.74	40.68 ± 10.11	39.29 ± 11.30 <sup>a</sup>	5.459	0.008
CpG8 (%)	37.96 ± 19.50	31.62 ± 10.96	34.16 ± 12.89	0.509	0.605
CpG9 (%)	40.94(33.74, 44.25)	30.20(21.46, 39.13)	45.35(40.19, 51.47) <sup>b</sup>	10.775	0.005
CpG10 (%)	20.85 ± 13.25	37.14 ± 7.93 <sup>a</sup>	35.70 ± 15.38 <sup>a</sup>	6.360	0.004
CpG11 (%)	44.02 ± 11.53	44.81 ± 12.10	38.62 ± 12.95	1.233	0.301
CpG12 (%)	40.12 ± 15.64	43.90 ± 19.85	43.31 ± 19.55	0.175	0.840

注:<sup>a</sup>表示与健康对照组比较*P* < 0.05, <sup>b</sup>表示与非失眠组比较*P* < 0.05

偏相关分析通过控制年龄、性别、民族及HAMD评分后发现，NR2B启动子区位点 CpG10 甲基化水平与 SCWT 单词 ( $r=0.569, P<0.05$ ) 及 SCWT 颜色 ( $r=0.526, P<0.05$ ) 呈中度正相关，CpG6 甲基化水平与 SCWT 色词呈中度正相关 ( $r=0.558, P<0.05$ )，见表 5。

#### 2.4 双相抑郁患者失眠症状影响因素分析

以失眠组与非失眠组作为因变量；一般及临床资料作为协变量进行单因素 Logistic 回归分析，筛选  $P<0.1$  的变量纳入多因素 Logistic 回归分析发现，高 HAMD 评分 ( $P=0.034, OR=0.729, 95\%CI: 0.544 \sim 0.976$ ) 和位点 CpG9 的高甲基化水平 ( $P=0.028, OR=0.814, 95\%CI: 0.677 \sim 0.978$ ) 与双相抑郁患者的失眠症状有关，见表 6。

表5 双相抑郁患者失眠相关执行功能损害与NR2B甲基化水平的相关性( $r$ )

项目	CpG1	CpG2	CpG3	CpG4	CpG5	CpG6	CpG7	CpG8	CpG9	CpG10	CpG11	CpG12
SCWT单词	0.259	-0.044	-0.150	0.172	0.346	0.256	-0.083	0.035	-0.231	0.569 <sup>a</sup>	-0.007	-0.028
SCWT颜色	0.287	-0.087	-0.136	0.196	0.231	0.356	-0.251	0.066	-0.267	0.526 <sup>a</sup>	0.011	0.222
SCWT色词	0.034	-0.088	-0.183	0.045	0.030	0.558 <sup>a</sup>	0.127	0.257	-0.048	0.429	0.169	0.311

注:本表给出的均为 $r$ 值,<sup>a</sup>表示 $P<0.05$

表6 双相抑郁患者失眠症状影响因素分析

变量	单因素Logistic回归( $P<0.1$ )			多因素Logistic回归(逐步向前回归-似然比)		
	OR(95%CI)	B	P	OR(95%CI)	B	P
CpG9(%)	0.852(0.746~0.974)	-0.160	0.019	0.814(0.677~0.978)	-0.206	0.028
HAMD(分)	0.824(0.701~0.970)	-0.193	0.020	0.729(0.544~0.976)	-0.316	0.034
HAMA(分)	0.883(0.792~0.984)	-0.125	0.025	-	-	-

### 3 讨论

DNA 甲基化作为最稳定的表观遗传方式，与BD的发病机制和进展密切相关<sup>[8-9]</sup>。本研究发现，三组间 NR2B 启动子区甲基化水平比较存在差异化 CpG 位点，这表明 NR2B 启动子区甲基化水平可能参与 BD 的发生，但国内外尚未有研究阐述 NR2B 基因甲基化水平与 BD 的关系。我国李宁<sup>[10]</sup>等人则发现长期负性情绪会导致大鼠 NR2B 基因甲基化水平增高，这表明 BD 的发生与 NR2B 基因甲基化水平有关。这可能是由于 BD 患者随着疾病进展导致谷氨酸能传递的长时间增强，以至于兴奋性毒性和神经元损伤，导致功能性 NMDA 受体密度降低<sup>[11]</sup>，而 NR2B 基因异常的甲基化水平可能参与其中。

本研究发现 NR2B 基因启动子区甲基化水平异常可能参与失眠症状的发生过程，并与执行功能受损相关。有研究发现在经受慢性睡眠剥夺后青年小鼠的海马 NR2B 蛋白水平降低<sup>[12]</sup>。梁小敏等<sup>[13]</sup>也发现睡眠剥夺大鼠的认知功能损害可能与其海马 NR2B 表达减少有关。这可能由于睡眠剥夺会改变海马或皮质 NMDAR 的 NR2A/NR2B 比率并降低 NR2B 表达水平，导致区域内双向突触可塑性和 NMDA 受体对谷氨酸能传递能力下降，导致认知功能损害<sup>[14]</sup>。这

可能与 NR2B 启动子区甲基化水平异常有关。此外，我们还发现高 HAMD 评分与失眠症状有关，这与既往研究一致<sup>[15]</sup>，表明抑郁情绪有可能通过影响睡眠进一步促进认知功能损害。

本研究初步探讨了双相抑郁患者失眠相关执行功能损害发生的可能基因遗传机制，但仍有一定的局限性。首先，样本量较少。其次，我们只选取了处于抑郁期的 BD 患者。此外，本研究未分析 NR2B 基因表达和 DNA 甲基化之间的可能相关性。未来可进一步扩大样本量，纳入处于不同时期的 BD 患者，丰富实验过程，进一步探索双相抑郁患者失眠相关执行功能损害与 NR2B 基因甲基化水平的关系。

#### 参考文献

- [1] Choi J, Kang J, Kim T, et al. Sleep, mood disorders, and the ketogenic diet: potential therapeutic targets for bipolar disorder and schizophrenia [J]. Front Psychiatry, 2024, 15: 1358578.
- [2] Uher R, Pavlova B, Najafi S, et al. Antecedents of major depressive, bipolar, and psychotic disorders: a systematic review and meta-analysis of prospective studies [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2024, 160: 105625.