

疲劳基因学研究进展

杨星哲, 李峰*, 吴凤芝, 李杰, 徐一菲, 王雪娇, 王若冲, 何青黎, 谭丽博
(北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] 疲劳是指开展或维持随意活动过程中出现障碍的表现,既可作为独立的疾病,又可作为多种疾病中出现的症状。疲劳发生率高,严重影响人们的身心健康,防治疲劳成为亟待解决的重要问题。疲劳的发病机制主要包括能量损耗、代谢产物堆积、递质分泌失常、线粒体功能下降、下丘脑-垂体-肾上腺轴功能失调等,目前国内外还没有形成统一的认识。疲劳的基因学研究是目前的研究前沿,基因表达谱研究为疲劳的机制研究提供了新的方法,基因芯片技术与中医学理论相结合,有望给疲劳的发病机制研究带来突破性进展。在疲劳的基因芯片研究中,信使RNA(mRNA)和微小RNA(miRNA)是常见的研究对象,而围绕某一具体信号通路对疲劳的基因表达规律及中医药治疗疲劳有效调控靶点的探索较少。近年来,中枢神经系统奖励和抑制作用的功能失调成为研究热点,尤其是 γ 氨基丁酸(GABA)和多巴胺(DA)分别作为抑制作用和奖励机制的主导物质备受关注。GABA和DA主导的抑制作用和奖励机制维持平衡则机体无疲劳感,而平衡一旦被打破,则疲劳感形成。同时,DA和GABA受体还可通过调控环磷酸腺苷(cAMP)信号通路来影响机体的疲劳感。运用基因芯片技术对GABA/DA平衡机制及相关cAMP信号通路中的关键基因进行研究有望深入揭示疲劳的发病机制。采用基因芯片的方法,检测疲劳人群和正常人群中GABA/DA信号通路及相关cAMP信号通路中关键基因表达的变化,可以深入探讨疲劳的发病机制。基于此,该文对和疲劳相关的GABA/DA平衡机制及相关cAMP信号通路中的关键基因进行总结归纳,为从基因学研究角度有针对性地深入探讨疲劳的发病机制并进行有效防治提供依据。

[关键词] 疲劳; 发病机制; γ 氨基丁酸(GABA)/多巴胺(DA)平衡机制; 环磷酸腺苷(cAMP)信号通路; 基因

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5;R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)08-0209-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210227

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20201119.1554.004.html>

[网络出版日期] 2020-11-19 16:23

Research Progress in Genetic Research of Fatigue

YANG Xing-zhe, LI Feng*, WU Feng-zhi, LI Jie, XU Yi-fei, WANG Xue-jiao,
WANG Ruo-chong, HE Qing-yun, TAN Li-bo
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] Fatigue refers to the manifestation of disorders in the process of carrying out or maintaining random activities, which can be regarded as an independent disease or as a symptom in a variety of chronic diseases. The high incidence of fatigue has seriously affected people's physical and mental health, and the prevention and treatment of fatigue has become an important problem to be solved urgently. The pathogenesis of fatigue mainly includes energy consumption, accumulation of metabolites, abnormal secretion of neurotransmitters, decline of mitochondrial function, dysfunction of hypothalamus pituitary adrenal axis, etc. At present, there is no unified understanding about the pathogenesis of fatigue at home and abroad. The gene research of fatigue is the current research frontier. Gene expression profiling provides a new method for the study of the mechanism of fatigue. The combination of gene chip technology and traditional Chinese medicine(TCM)

[收稿日期] 20201105(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81874428);中国博士后科学基金面上项目(2019M660570)

[第一作者] 杨星哲,博士,在站博士后,助理研究员,从事中医病证结合研究,E-mail:yxz2009913@163.com

[通信作者] *李峰,博士,教授,从事中医病证结合研究,E-mail:lifeng95@vip.sina.com

theory is expected to bring a breakthrough in the study of the pathogenesis of fatigue. In the study of fatigue gene chip, messenger RNA (mRNA) and microRNA (miRNA) are the common research objects, but few explorations are focused on the gene expression rule of fatigue by a specific signaling pathway and the effective regulation targets of TCM for treating fatigue. In recent years, the dysfunction of reward and inhibition mechanism in the central nervous system has become a research hotspot. In particular, gamma amino butyric acid (GABA) and dopamine (DA) have attracted much attention as the main substances of inhibition and reward mechanism, respectively. GABA and DA are used as inhibition and reward mechanisms to maintain the balance, and the body will not feel fatigue. Once the balance is broken, the fatigue will be formed. At the same time, DA and GABA receptors can also regulate cyclic adenosine monophosphate signaling pathway (cAMP) to affect fatigue. The research on key genes in GABA/DA balance mechanism and related cAMP signaling pathway by gene chip technology is expected to reveal the pathogenesis of fatigue in depth. The gene chip method is used to detect the changes of key genes in GABA/DA pathway and the related cAMP signaling pathway in the fatigue population and the normal population, so as to further explore the pathogenesis of fatigue. In this paper, the key genes in GABA/DA balance mechanism and cAMP signaling pathway related to fatigue were summarized by using the review method, so as to provide the basis for further study on the pathogenesis of fatigue and effective prevention and treatment from the perspective of genetics.

[Key words] fatigue; pathogenesis; gamma amino butyric acid (GABA)/ dopamine (DA) balance mechanism; cyclic adenosine monophosphate (cAMP) signal pathway; gene

随着生活节奏的加快,疲劳已成为影响人们生活的重要因素。疲劳发生率高,调查报告发现,超过1/2以上的人群有疲劳感,其中,超过1/3的人群明确指出,因疲劳导致了生活质量和工作效率大大降低^[1]。自世界卫生组织在报告中将疲劳列为21世纪危害人类健康的主要因素之一,研究领域对疲劳的关注度逐年升高。疲劳诱因复杂,可造成严重的后果,如与驾驶事故^[2-3]、学习成绩下降等^[4-5]有关。疲劳还会对身体健康产生一系列的危害,如残疾和过早死亡风险的增加^[6-10]。一般人群的疲劳程度显示,随着年龄的增长在整个成年期都会增加^[11-13],这是日后身体机能下降的关键因素^[14]。疲劳既可作为一种症状伴随其他疾病,如常见于癌症、神经退行性疾病和慢性炎症性疾病,被许多患者视为最严重的问题^[15],又可作为独立的疾病,同时还是抗惊厥药、止痛药、抗抑郁药等的常见不良反应^[16]。

目前有关疲劳尚无统一定义。《柳叶刀》(*Lancet*)上将疲劳定义为开展或维持随意活动过程中出现障碍的表现^[17],《自然》(*Nature*)对疲劳的含义进行了如下解释:疲劳是指机体感到极度乏力,可以具体体现在躯体上存在无力感、精神上感到疲倦;疲劳的显著特点有能量不足、动机下降和精神涣散。为和生理性疲劳进行区分,李峰等^[18]从发病因素、持续时间、表现特点等方面,给疲劳下了更加

精确的定义:因躯体或脑力过度消耗,造成疲劳感;这种疲劳感持续的时间长于3个月,经过休息后不能得到全面恢复;认知功能发生下降、负面情绪产生、躯体活动功能下降等表现是其特点。关于疲劳的发生机制目前尚无统一说法,开展相关研究具有重要意义。

研究表明,基因表达的改变决定了疾病的发生发展,而疲劳具有基因易感性,站在基因学的角度,有望深入探讨疲劳的发病机制。基因芯片技术是一项前沿的生物技术,运用基因芯片技术进行基因表达谱研究为探讨疲劳的发病机制以及中医药的干预机制提供了新的方法。本文通过广泛查阅疲劳基因学研究的文献发现,信使RNA(mRNA)是常用的研究对象,而微小RNA(miRNA)与慢性疲劳综合征(CFS)的发生发展关系密切,同时对调控基因表达的mRNA和miRNA进行研究具有必要性。同时,聚焦某一疲劳相关信号转导通路开展疲劳发病机制的深入研究较少。近年来, γ 氨基丁酸(GABA),多巴胺(DA)分别主导的抑制-奖励平衡机制及相关环磷酸腺苷(cAMP)信号通路是疲劳发病机制研究的热点。基于此,本文创新提出,采用基因芯片技术,同时对GABA/DA平衡机制及相关cAMP信号通路中关键基因的mRNA和miRNA进行研究,有望深入揭示疲劳的发病机制,并总结出cAMP信号通路中与疲劳相关的关键基因,为站在

基因学研究角度有针对性地深入探讨疲劳的发病机制并进行有效防治提供了依据。

1 疲劳的发病机制与基因易感性密切相关

基因是核酸分子中贮存遗传信息的遗传单位,可通过编码功能蛋白质来体现基因组的功能。基因表达的改变决定了疾病的发生发展。自21世纪初,有学者提出了疲劳具有基因易感性后,越来越多的证据表明,疲劳受到了基因的影响^[19-20]。基因表达的改变在疲劳的发生发展中具有重要作用^[21],有学者运用循证医学,证实了慢性疲劳和基因存在一定的相关性^[22],还有学者指出了疲劳存在时,某些基因存在上调和下调,同时揭示出疲劳发生时上调和下调的基因集合^[23]。

2 基于基因芯片技术的基因表达谱研究为探究疲劳发生机制提供了新方法

基因芯片技术是一项前沿的生物技术,伴随人类基因组计划的实施而发展。基因芯片(gene chip)别称DNA芯片,DNA微阵列,寡核苷酸微阵列,是生物芯片的一种^[24]。基因芯片在生物芯片中发展最完善、应用最广泛。基因芯片技术发源于美国,具有快速、高效、连续、准确等特点^[25],该技术是以基因探针、核酸杂交技术为基础的核酸序列分析方法^[26]。基因芯片分类方法多样,依据载体基质不同,分为有机基因芯片、无机基因芯片;根据使用功能的不同,分为表达谱芯片、测序芯片、基因差异表达芯片。基因芯片的原理是将特定的已知核酸序列的互补DNA(cDNA)片段或寡核苷酸片段,有规律地固定在固相支撑物(硅片、陶瓷或玻璃片等)表面作为基因探针,和已用荧光或放射性同位素标记过的DNA或RNA样品按照碱基互补配对原则杂交,根据计算机检测系统分辨出的杂交信号,通过特定序列的DNA片段(探针)→固定在硅片、玻片等固定物上→荧光标记待测样本→碱基互补配对原理杂交→检测杂交信号→计算机分析→检测对应片段是否存在及存在量→基因的功能研究和基因组研究的基因芯片操作流程,高效快速地检测靶基因的存在量和有无变异^[27]。

基因芯片技术能同时检测和疲劳有关的多个基因的差异表达,发现许多新的、潜在的疲劳相关基因群,形成疲劳的基因表达谱,在研究疲劳的发生机制,探索有效治疗疲劳的干预方法方面应用前景广阔^[28-29]。近年研究表明,有关疲劳基因表达谱的基因芯片研究已经开展。田振军等^[30]采用基因芯片技术筛选运动性疲劳的相关基因,发现与疲劳

相关的117个基因发生了显著差异表达,经生物信息学分析发现,在疲劳的发生发展过程中,存在代谢相关类基因、信号转导类基因、蛋白激酶类基因、免疫相关类基因等多类基因群的参与。唐量等^[29]采用基因芯片技术,分析和脂类代谢相关的硬脂酰基-辅酶A去饱和酶2(Scd-2)基因和脑型脂肪酸结合蛋白(B-FABP)基因在疲劳小鼠脑组织中的表达情况,发现二者均在疲劳性运动小鼠脑组织中发生了显著差异表达。PIHUR等^[31]运用Meta分析的方法发现,CFS及其相关症状发生发展的过程中,有11个基因发挥了重要作用。其中,Wiskott-Aldrich综合征蛋白家族成员3(WASF3)基因可通过激活p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)通路来调节中枢内细胞因子的表达,从而导致疲劳的发生发展。基因组学研究发现,疲劳相关的差异表达基因共有188个,和正常组对比,CFS患者中发生明显上调的基因有:负责编码能量代谢的ATP5J2, COX5B, DBI;负责编码蛋白酶体亚组的PSMA3, PSMA4;负责编码蛋白激酶抑制剂的HINT等,这些基因的功能主要涉及能量代谢、蛋白酶抑制等^[32-33]。

3 将基因芯片技术与中医学理论相结合,有望对疲劳研究带来突破性进展

随着人类基因组计划的实施和现代分子生物学技术的迅猛发展,基因芯片技术日趋成熟。快速、高效、自动化的优势使其在医药科研和临床诊断中倍受青睐^[34]。中医药发展历史悠久,由于中医药治疗疾病的作用机制不明确,导致其在走向世界舞台的道路上遭遇羁绊^[35]。其中的突破点在于确定可量化的现代生物学指标。将基因芯片技术与中医学理论相结合,可以快速、高效、定量分析个体基因的表达,其多靶点的研究特点又和中医整体观思想相契合。运用基因芯片技术,能够从基因水平阐释中药的作用机制和疾病证候的本质,推进中医药现代化的发展。

3.1 基因芯片技术和中医学理论相结合,有助于阐释中医证候的科学内涵 中医“证”是中医药临床治疗的核心,阐明中医“证”的本质是中医药现代化发展进程中必须解决的问题。关于“证”的本质,一直是中西医结合研究的热点,但难以突破。虽有学者将分子生物学方法引入中医药研究,但往往从单基因较局限的角度来探讨中医药干预在基因水平上的变化。而基因芯片能够全面分析某一阶段疾病基因表达谱中基因的多态性,避免了常规的分子生物学技术只能分析某一生理或病理过程中一个

或几个基因的改变,忽视了不同基因产物间相互联系的弊端。中医证候的本质可以体现在基因和蛋白水平发生的变化^[36],利用基因芯片技术的高通量等优点,通过基因表达的差异性分析,可以揭示证候发生和发展的基因调控规律,进而在基因层面探索中医“证”的本质与内涵。

3.2 基因芯片技术和中医学理论的结合,有助于全面精准分析中药复方的作用机制。中药含有多种化学成分,导致其可发挥多系统、多作用通路、多靶点的整体治疗作用,而基因芯片技术能够通过测定药物具体调控的靶基因来对疗效进行具体评价,为中药产生的复杂作用机制提供科学依据^[37]。同时,由多味中药组成的中药复方成分更复杂。按中医传统的思维模式分析中药复方的作用机制,是通过对其中的中药进行组合,进行“拆方”“组方”,从而推断出可能的作用机制。而这种做法认识中药复方的作用机理较局限,尤其是对其新功能的认识和开发。采用基因芯片技术,能迅速了解该复方对基因组中某些基因表达的影响,使对复方的原有功能的认识更加明确,对开拓中药复方的新功能提供了客观依据^[38]。

3.3 基因芯片技术和中医学理论的结合,有助于明确中医病因病机的物质基础。病因是指导致人类疾病的因素。中医理论认为,主要有六淫和七情等。病机是指疾病发生、发展和变化的机制。疾病的发生、发展和变化,与机体的体质强弱和治病邪气的性质密切相关。邪盛正衰、阴阳失调、气血失常和津液代谢失常等是导致疾病的常见病因病机。疾病的产生往往病机复杂,中医理论对其阐释不够明确,而站在基因学角度认识,疾病的产生是由多基因、多因素、遗传和环境共同作用的结果。例如,邪盛正衰往往是疾病发生的关键病机,可以表现为人体某些基因的过度表达,功能亢盛和异常改变;正衰可以表现为机体某些基因的表达受到了抑制。应用基因芯片技术,探索基因在疾病发生、发展与变化的表达情况,有助于明确中医病因病机的物质基础,精准认识引起疾病发生的病因和导致疾病变化的关键病机^[39]。

近年来,基因芯片技术已广泛应用于中医药研究的许多方面,如中医证候、体质、中药复方靶点研究、中药药理研究等领域^[40]。这些应用聚焦在中医学研究和基因芯片研究两个方面,体现出整体观、辨证论治以及快速高效定量分析基因表达的具体思路。疲劳的发病机制和中医药治疗疲劳的有效

机制研究一直是关注的焦点。疲劳发生机制复杂,目前还没有统一、完整的治疗方案。应用该技术,能同时检测与疲劳相关的多个基因的差异表达,形成疲劳基因表达谱,从整体审视疲劳并全面分析药物在基因水平上的作用机制。但目前采用基因芯片技术,结合中医学理论,将差异表达基因作为靶点,对疲劳发病机制进行的深入研究还较少。在研究中可以筛选出在某一研究热点的通路中与疲劳相关的易感基因,确定其表达阳性后,再选择能够降低其基因表达的中医药干预方案。如此将基因芯片技术与中医学理论相结合,有望对疲劳的发病机制研究带来突破性进展。

在基因芯片的研究中,mRNA是常用的研究对象。miRNA为长度约18~25个核苷酸的内源性非编码单链小RNA分子,通过碱基互补配对识别靶基因(mRNA)来降解靶基因或阻遏靶基因的翻译。miRNA在基因表达调控方面有重要作用,其表达失调会引起肿瘤、心血管疾病、代谢性疾病、风湿性疾病及神经系统疾病等^[41]。

有研究表明,运动负荷过大,会使大鼠脑组织中一氧化氮合酶(NOS)的mRNA表达减弱、内皮素-1(ET-1)mRNA的表达增强,造成局部血管持续收缩,进而导致局部缺血^[42]。NOS和ET-1能够改变血氧供应拮抗因子间的平衡,使局部脑组织进一步缺血缺氧,造成中枢疲劳。研究还提示,miRNA与CFS的发生发展关系密切^[43]。CUI等^[44]研究发现,let-7b-5P,miR-148a-3P,miR-124-3P等miRNA可通过调节CFS患者神经冲动的传递和基因表达,来调节下丘脑对针刺治疗的耐受性,从而影响机体的疲劳感。PETTY等^[45]运用基因芯片技术发现,CFS患者的外周血中有34种miRNA发生了过表达,其中,hsa-miR-99b,hsa-miR-330-3P在B细胞和自然杀伤(NK)细胞中的表达发生了上调,这两种miRNA能够使基因表达发生变化,导致免疫功能失常,进而产生疲劳。目前有关疲劳的基因芯片研究,以单独研究mRNA的居多,对mRNA和miRNA均进行研究,探讨这两种RNA在疲劳发病机制中表达规律的文章却几乎没有。在2012年以前,学者对亚健康疲劳的认识较浅,关于miRNA在亚健康疲劳发生机制中的作用尚未见报道^[46]。而疲劳的发生不仅和mRNA的表达相关,还和miRNA的表达关系密切,同时对miRNA和mRNA进行研究,可全面探索疲劳的发病机制。

运用基因芯片技术能够快速、高效、定量地检

测差异基因的表达。在基因芯片研究中,mRNA和miRNA是常见的研究对象。其中,mRNA携带遗传信息,指导蛋白质的合成;而miRNA的失调也可引起多种疾病。有学者将基因芯片技术运用到疲劳研究中,筛选出了疲劳基因表达谱。研究表明,代谢相关基因、信号转导类基因、蛋白激酶类基因、免疫相关类基因是疲劳基因表达谱中常见的差异表达基因。将基因芯片技术应用到疲劳的研究中,可以从整体审视疲劳的发生,同时全面分析抗疲劳药物的基因调控靶点。

4 运用基因芯片技术对GABA/DA平衡机制及相关cAMP信号通路中的关键基因进行研究具有重要意义

有关疲劳的发病机制的假说^[47]主要包括能量损耗、代谢产物堆积、递质分泌失常、线粒体功能下降、下丘脑-垂体-肾上腺轴功能失调等,目前国内外还没有形成统一的认识。疲劳的基因学研究是目前的研究前沿,但围绕某一具体信号通路,对疲劳的基因表达规律及药物治疗疲劳有效调控靶点的探索较少。近年来,中枢神经系统奖励和抑制作用的功能失调成为研究热点^[48],尤其是GABA和DA分别作为抑制作用和奖励机制的主导物质备受关注。在正常情况下,中枢神经系统内抑制性和兴奋性神经递质的代谢处于平衡状态;这种平衡一旦被破坏,就有可能造成疲劳^[49]。研究发现,DA和GABA受体还均可通过调控cAMP信号通路来影响机体的疲劳感^[50]。采用基因芯片的方法,检测疲劳人群和正常人群中GABA/DA通路分别作用于cAMP信号通路中关键基因表达的变化,可深入探讨疲劳的发病机制。经查阅文献,以下基因为GABA/DA通路分别作用于cAMP信号通路中的关键基因(图1)。

4.1 cAMP依赖性蛋白激酶II型 α 调节亚单位基因(PRKAR2A) 国外有学者采用了基因芯片技术,通过分析CFS患者的基因表达谱,来了解CFS的发病机制。研究表明,PRKAR2A基因在慢性疲劳综合征患者中高表达;而cAMP依赖性蛋白激酶II- α 调节亚基是由PRKAR2A基因编码的一种酶,参与调节cAMP信号传导通路^[22]。

4.2 cAMP应答元件调制因子基因(CREM) 有研究表明,慢性疲劳综合征患者组基因表达改变的转录本与正常组相比,有显著性差异。其中,CREM基因在CFS组显著表达,它是CAMP通路反应元素的调节器^[51]。

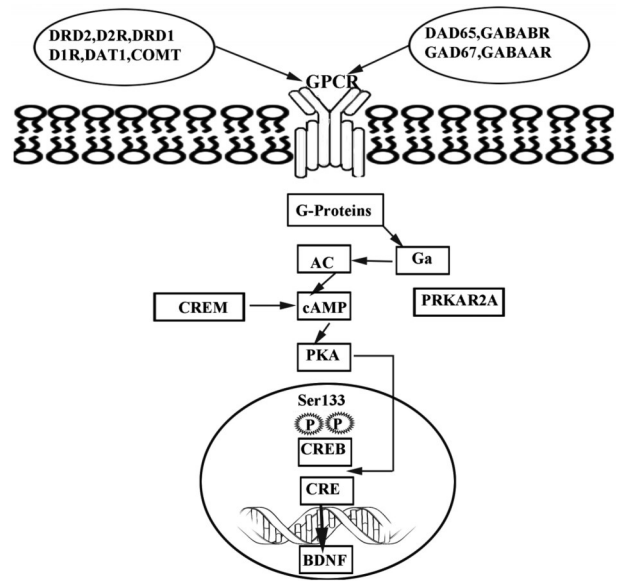


图1 GABA/DA平衡机制及相关cAMP信号通路中疲劳相关基因
Fig. 1 Fatigue related genes in GABA/DA balance mechanism and related cAMP signaling pathway

4.3 儿茶酚-O-甲基转移酶编码基因(COMT),多巴胺受体D1基因(DRD1),DRD2和多巴胺转运体基因(DAT1) DA是中枢神经系统重要的兴奋性神经递质,对情绪有积极调节的作用,可提高记忆力,缓解疲劳^[52];同时主导奖励效应机制,提高工作能力和效率^[53-54]。多巴胺产生生物学效应通过与其受体结合来实现,从而调节cAMP信号转导通路的活性。研究表明,COMT,DRD1,DRD2和DAT1等一系列多巴胺系统基因的多态性均被证实与工作记忆表现具有显著的相关关系^[55],可以作为探讨疲劳发病机制的靶点基因。

4.4 谷氨酸脱羧酶基因(GAD)65,GAD67, γ 氨基丁酸受体B基因(GABABR), γ 氨基丁酸受体A基因(GABAAR) 有学者选取GAD65,GAD67,GABABR,GABAAR基因作为靶点,探究疲劳的发病机制。例如MAKINAE等^[56]探究了转基因小鼠GABA能神经元GAD65基因的结构和表达;ABE等^[57]探讨了苯环利定镇痛药对大鼠脑GABAAR亚单位mRNA基因差异表达的影响;MUÑOZ等^[58]运用猿猴特异性cDNA探针,通过原位杂交技术观测了猿猴丘脑GABABR表达的差异;MA等^[59]运用原位杂交技术对17~20d胚胎和新生大鼠脑新皮质的GABA受体 α_4 , β_1 和 γ 亚单位,GAD65,GAD67的mRNAs进行了研究。

4.5 蛋白激酶A(PKA) PKA存在于细胞质中,是神经系统的主要调节因子,在神经发育、轴突生长、行为形成和长期记忆形成等方面具有重要的正调

节作用^[60]。有学者进行基因芯片筛选,在运动疲劳小鼠股四头肌组织中发现,有124个基因发生了显著的表达差异,其中发生上调的基因有44个,包括cAMP通路中的PKA及线粒体相关类基因、信号转导类基因和免疫相关类基因等。田振军等^[30]采用基因芯片技术对运动性疲劳的相关基因进行了筛选并运用生物信息学分析后指出,包括蛋白激酶类基因、代谢相关类基因、信号转导类基因、线粒体相关类基因等参与了运动性中枢疲劳的发生发展。

4.6 环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)及脑源性神经营养因子(BDNF) 既往研究表明,cAMP信号通路下游的蛋白激酶A/环磷腺苷效应元件结合蛋白(PKA/CREB)通路在中枢神经系统中发挥了关键性作用,具有促进神经细胞的存活、再生及分化等功能,并与学习记忆密切相关^[61]。CREB是细胞核内的转录因子,可调节多种神经系统功能,如学习记忆等,被称为记忆的“开关”,尤其在产生长时程记忆中具有重要作用。cAMP信号通路的激活能够启动CREB的磷酸化,进而使CREB发生活化。

研究指出,cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路功能异常参与了抑郁症的发生发展^[62-63]。MA等^[64]对512例重症抑郁症(MD)患者和513例对照受试者进行研究后指出,CREB是抑郁症的易感基因。有研究指出,磷酸化CREB(p-CREB)能够促进神经元细胞的生长、增殖和存活以及调控神经可塑性相关基因的表达。除此之外,p-CREB还具有调控CREB调节转录功能的作用^[65]。TSUCHIMINE等^[66]检测了23例重度抑郁症患者和47例健康受试者体内CREB的表达量后发现,抑郁症患者体内的CREB和p-CERB表达量和健康受试者相比,均显著降低;有学者通过动物实验证实,慢性轻度应激大鼠的海马和前额叶皮质层部位CREB的磷酸化水平明显高于对照组,并分析指出这种实验结果的产生与压力引起的情绪低落相关^[67]。此外,BDNF缺乏症在精神疾病和相关脑萎缩的病理生理学中有关键作用。cAMP浓度的增加会激活转录因子CREB,导致BDNF的合成^[68]。有学者研究抑郁模型大鼠时发现,抑郁症的发生可下调cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路的活性,造成CREB和BDNF mRNA表达水平的下降,导致CREB和BDNF含量的降低。还有证据表明,BDNF及其相关的miRNA是抑郁症诊断的重要生物标记和治疗靶标^[69]。

鉴于cAMP/PKA/CREB/BDNF信号通路的功

能特点及情绪低落、认知功能减退是疲劳的典型症状,故CREB,p-CREB基因可作为基因芯片研究GABA/DA平衡机制及相关cAMP信号通路中的关键基因。

5 结语

疲劳发生率高,严重危害了人类的身心健康,降低了工作效率,并可造成严重的后果,耗费巨大的治疗成本。有关疲劳的发病机制的假说很多,但目前国内外还没有形成统一的认识,探究疲劳的发病机制对有效防治疲劳具有重大意义。疲劳的基因学研究是当今疲劳研究的前沿。研究发现,虽然疲劳的发病机制与基因易感性密切相关,基因表达谱研究为探讨疲劳的发病机制提供了新方法,但围绕某一具体信号通路,对疲劳的基因表达规律及药物治疗疲劳有效调控靶点的探索较少。最新研究提示,中枢神经系统奖励和抑制作用失调是疲劳的研究热点,尤其是GABA和DA分别作为抑制作用和奖励机制的主导物质而备受关注,而相关cAMP信号通路被认为可能是抑制和奖励机制影响疲劳的关键环节。采用基因芯片的方法,同时对疲劳人群和正常人群中GABA/DA通路及AC/cAMP/PKA信号通路中关键基因mRNA和miRNA表达的变化进行检测,可全面深入探讨疲劳发病机制。本文通过查阅疲劳的基因学研究资料,归纳了cAMP信号通路中的与疲劳相关的关键基因,如PKAR2A,CREM,COMT,DRD1,DRD2,DAT1,GAD65,GAD67,GABABR,GABAAR,D1R,D2R,PKA,CREB1,p-CREB等,为站在基因学研究角度有针对性地深入探讨疲劳的发病机制并进行有效防治提供了依据。

[参考文献]

- [1] WATANABE Y, EVENGRD B, NATELSON B H, et al. *Fatigue Science for Human Health* [M]. Berlin: Springer, 2008:5-11.
- [2] TAYLOR A H, DORM L. Stress, fatigue, health, and risk of road traffic accidents among professional drivers: the contribution of physical inactivity [J]. *Annu Rev Publ Health*, 2006, 27(1):371-391.
- [3] ALWIN V D, CÉCILE R L B, HYNEK H, et al. Risk factors for fatigue among airline pilots [J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 2017, 90(1):39-47.
- [4] FUKUDA, YAMANO E, JOUDOI T, et al. Effort-reward imbalance for learning is associated with fatigue in school children [J]. *Behav Med*, 2010, 36

- (2):53-62.
- [5] SAMKOFF J S, JACQUES C H M. A review of studies concerning effects of sleep deprivation and fatigue on residents' performance [J]. *Acad Med*, 1991,66(11):687-693.
- [6] AVLUND K, PEDERSEN A N, SCHROLL M. Functional decline from age 80 to 85: influence of preceding changes in tiredness in daily activities [J]. *Psychosom Med*, 2003, 65(5):771-779.
- [7] MOREH E, JACOBS J M, STESSMAN J. Fatigue, function, and mortality in older adults [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2010, 65(8):887-895.
- [8] HARDY S E, STUDENSKI S A. Fatigue predicts mortality in older adults [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2008, 56(10):1910-1914.
- [9] SIMONSICK E M, GLYNN N W, JEROME G J, et al. Fatigued, but not frail: perceived fatigability as a marker of impending decline in mobility-intact older adults [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2016, 64(6):1287-1292.
- [10] BASU N, YANG X Z, LUBEN R N, et al. Fatigue is associated with excess mortality in the general population: results from the EPIC-Norfolk study [J]. *BMC Med*, 2016, 14(1):122.
- [11] BEUTEL M E, WEIDNER K, SCHWARZ R, et al. Age-related complaints in women and their determinants based on a representative community study [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2004, 117(2):204-212.
- [12] LOGE J H, EKEBERG Ø, KAASA S. Fatigue in the general Norwegian population: normative data and associations [J]. *J Psychosom Res*, 1998, 45 (1) : 53-65.
- [13] MENG H, HALE L, FRIEDBERG F. Prevalence and predictors of fatigue in middle-aged and older adults: evidence from the health and retirement study [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2010, 58(10):2033-2034.
- [14] GILL T M, DESAI M M, GAHBAUER E A, et al. Restricted activity among community-living older persons: incidence, precipitants, and health care utilization [J]. *Ann Intern Med*, 2001, 135 (5) : 313-321.
- [15] OMDAL R. The biological basis of chronic fatigue: neuroinflammation and innate immunity [J]. *Curr Opin Neurol*, 2020, 33(3):391-396.
- [16] PENNER I K, PAUL F. Fatigue as a symptom or comorbidity of neurological diseases [J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13(11):662-675.
- [17] CHAUDHURI A, BEHAN P O. Fatigue in neurological disorders [J]. *Lancet*, 2004, 363(9413) : 978-988.
- [18] 李峰,韩晨霞,吴凤芝,等. 疲劳的现代研究 [J]. *中国科学:生命科学*, 2016, 46(8):903-912.
- [19] AFARI N, BUCHWALD D. Chronic fatigue syndrome: a review [J]. *Am J Psychiatry*, 2003, 160 (2):221-236.
- [20] LARKINS R G, MOLESWORTH S R. Chronic fatigue syndrome clinical practice guidelines [J]. *Med J Aust*, 2002, 177(1):51-52.
- [21] DINOS S, KHOSHABA B, ASHBY D, et al. A systematic review of chronic fatigue, its syndromes and ethnicity: prevalence, severity, co-morbidity and coping [J]. *Int J Epidemiol*, 2009, 38(6):1554-1570.
- [22] FANG H, XIE Q, BONEVA R, et al. Gene expression profile exploration of a large dataset on chronic fatigue syndrome [J]. *Pharmacogenomics*, 2006, 7 (3) : 429-440.
- [23] NORHEIM KB, JONSSON G, OMDAL R. Biological mechanisms of chronic fatigue [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2011, 50(6):1009-1018.
- [24] 唐晨,田晓玲,胡乐琴,等. 基因芯片在海洋微藻研究中的应用前景 [J]. *生物技术通报*, 2010(11) : 72-75, 86.
- [25] 孙兵,闫彩霞,张廷婷,等. 基因芯片技术在植物基因克隆中的应用研究进展 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2009, 28(1):153-158.
- [26] 黄峰,何文锦,代容春,等. 利用基因芯片筛选甘蔗成熟期叶片差异表达候选基因 [J]. *亚热带农业研究*, 2012, 8(1):46-50.
- [27] 付建,黄胜斌,陈磊,等. 基因芯片技术在细菌学研究中的应用进展 [J]. *湖北农业科学*, 2009, 48(7) : 1765-1768.
- [28] 田振军,张志琪,唐量,等. 骨骼肌运动疲劳相关基因的基因表达谱研究 [C]. //国家体育总局运动医学研究所,中国运动医学学会. 2002年第9届全国运动医学学术会议论文摘要汇编,北京:[出版者不详], 2002:236.
- [29] 唐量,田振军,熊正英,等. 应用基因芯片技术对疲劳性运动小鼠脑组织脂肪代谢相关基因表达的初步研究 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2005, 21(2):137-139.
- [30] 田振军,张志琪. 小鼠运动性疲劳相关基因筛选的初步研究 [J]. *中国运动医学杂志*, 2002, 21(1):4-6.
- [31] PIHUR V, DATTA S, DATTA S. Meta analysis of Chronic Fatigue Syndrome through integration of clinical, gene expression, SNP and proteomic data [J]. *Bioinformatics*, 2011, 6(3) : 120-124.
- [32] SAIKI T, KAWAI T, MORITA K, et al. Identification

- of marker genes for differential diagnosis of chronic fatigue syndrome [J]. *Mol Med*, 2008, 14 (9/10) : 599-607.
- [33] MASHIKO T, UMEDA T, NAKAJI S, et al. Position related analysis of the appearance of and relationship between post-match physical and mental fatigue in university rugby football players[J]. *Br J Sports Med*, 2004, 38(5) : 617-621.
- [34] 苏宁, 杨丽, 刘娟, 等. 基因芯片技术的国内应用研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2016, 27(2) : 289-292.
- [35] WANG J, GUO Y, LI G L. Current status of standardization of traditional Chinese medicine in China [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, doi: 10.1155/2016/9123103.
- [36] 管艳, 苏式兵. 生物芯片技术及其在中医药研究中的应用进展[J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(2) : 422-425.
- [37] 吕琳星, 王文凯, 张璐, 等. 基因芯片技术在中药方剂现代化研究中的应用[J]. *江西中医学院学报*, 2012, 24(4) : 48-51.
- [38] 张发宝, 李欣梅. 基因芯片技术在中医药研究中的应用[J]. *安徽中医学院学报*, 2002, 3(21) : 57-59.
- [39] 高冬梅. 基因芯片在中医学领域应用的研究进展[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2013, 11(7) : 5-6.
- [40] XIAN D, ZHAO Y. LncRNA KCNQ1OT1 enhanced the methotrexate resistance of colorectal cancer cells by regulating miR-760/PPP1R1B via the cAMP signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6) : 3808-3823.
- [41] BHAYANI M K, CALIN G A, LAI S Y. Functional relevance of miRNA sequences in human disease[J]. *Mutat Res*, 2012, 731(1/2) : 14-19.
- [42] 李峰, 杨维益, 季绍良, 等. 运动性疲劳大鼠脑组织中一氧化氮合酶和内皮素mRNA表达的变化规律及中药“体复康”的调节作用[J]. *中国运动医学杂志*, 2001, 20(2) : 116-120.
- [43] BRENU E W, ASHTON K J, BATOVSKA J, et al. High-throughput sequencing of plasma microRNA in chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9) : e102783.
- [44] CUI L, DING Y, FENG Y, et al. MiRNAs are involved in chronic electroacupuncture tolerance in the rat hypothalamus [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(2) : 1429-1439.
- [45] PETTY R D, MCCARTHY N E, LE DIEU R, et al. MicroRNAs hsa-miR-99b, hsa-miR-330, hsa-miR-126 and hsa-miR-30c: potential diagnostic biomarkers in natural killer (NK) cells of patients with chronic fatigue syndrome (CFS)/ myalgic encephalomyelitis (ME) [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3) : e0150904.
- [46] BRENU E W, ASHTON K J, VAN DRIEL M, et al. Cytotoxic lymphocyte microRNAs as prospective biomarkers for chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis [J]. *J Affect Disord*, 2012, 141(2/3) : 261-269.
- [47] TANAKA M, ISHII A, WATANABE Y. Neural effects of mental fatigue caused by continuous attention load: a magnetoencephalography study [J]. *Brain Res*, 2014, 1561 : 60-66.
- [48] ISHII A, TANAKA M, WATANABE Y. Neural mechanisms of mental fatigue [J]. *Rev Neurosci*, 2014, 25(4) : 469-479.
- [49] 张蕴琨, 丁树哲. 运动生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006 : 148.
- [50] ARNSTEN A F, WANG M J, PASPALAS C D. Neuromodulation of thought: flexibilities and vulnerabilities in prefrontal cortical network synapses [J]. *Neuron*, 2012, 76(1) : 223-239.
- [51] SWEETMAN E, RYAN M, EDGAR C, et al. Changes in the transcriptome of circulating immune cells of a New Zealand cohort with myalgic encephalomyelitis/ chronic fatigue syndrome [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2019, 33 : 1-8.
- [52] 缙祖新. 多巴胺与中枢疲劳[J]. *唐山师范学院学报*, 2009, 31(2) : 118-120.
- [53] BOKSEM M A, TOPS M. Mental fatigue: costs and benefits [J]. *Brain Res Rev*, 2008, 59(1) : 125-139.
- [54] TSCHUMI C W, BECKSTEAD M J. Neurotensin speeds inhibition of dopamine neurons through temporal modulation of GABAA and GABAB receptor-mediated synaptic input [J]. *Neuropharmacology*, 2018, 131 : 414-423.
- [55] 王筠新, 李鹤. 多巴胺系统相关基因与工作记忆研究进展[J]. *河南教育学院学报: 自然科学版*, 2009, 18(3) : 23-27.
- [56] MAKINAE K, KOBAYASHI T, KOBAYASHI T, et al. Structure of the mouse glutamate decarboxylase 65 gene and its promoter: preferential expression of its promoter in the GABAergic neurons of transgenic mice [J]. *J Neurochem*, 2000, 75(4) : 1429-1437.
- [57] ABE S, SUZUKI T, ITO T, et al. Differential expression of GABA(A) receptor subunit mRNAs and ligand binding sites in rat brain following phencyclidine administration [J]. *Synapse*, 2000, 38(1) : 51-60.
- [58] MUÑOZ A, HUNTSMAN M M, JONES E G. GABA

- (B) receptor gene expression in monkey thalamus[J]. *J Comp Neurol*, 1998, 394(1): 118-126.
- [59] MA W, BARKER J L. GABA, GAD, and GABA (A) receptor alpha4, beta1, and gamma1 subunits are expressed in the late embryonic and early postnatal neocortical germinal matrix and coincide with gliogenesis [J]. *Microsc Res Tech*, 1998, 40 (5) : 398-407.
- [60] ABEL T, NGUYEN P V, BARAD M, et al. Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory[J]. *Cell*, 1997, 88(5): 615-626.
- [61] YE Y L, ZHONG K, LIU D D, et al. Huanglian-Jie-Du-Tang Extract ameliorates depression-like behaviors through BDNF-TrkB-CREB Pathway in rats with chronic unpredictable stress [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, doi: 10.1155/2017/7903918.
- [62] WANG C, GUO J, GUO R. Effect of XingPiJieYu decoction on spatial learning and memory and cAMP-PKA-CREB-BDNF pathway in rat model of depression through chronic unpredictable stress [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1): 73.
- [63] CHEN Q, LUO Y, KUANG S, et al. Cyclooxygenase-2 signalling pathway in the cortex is involved in the pathophysiological mechanisms in the rat model of depression[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 488-500.
- [64] MA J, WANG L, YANG Y, et al. GNB3 and CREB1 gene polymorphisms combined with negative life events increase susceptibility to major depression in a Chinese Han population [J]. *PLoS One*, 2017, 12(2) : e0170994.
- [65] SAEKI K, YUO A, TAKAKU F. Cell-cycle-regulated phosphorylation of cAMP response element-binding protein: identification of novel phosphorylation sites [J]. *Biochem J*, 1999, 338(1): 49-54.
- [66] TSUCHIMINE S, SUGAWARA N, YASUI-FURUKORI N. Increased levels of CREB in major depressive patients with antidepressant treatment [J]. *Psychiatry Res*, 2018, 263(5): 296-297.
- [67] 王凌霄, 彭代辉, 黄建华, 等. CREB 磷酸化水平在慢性应激模型大鼠中表达研究 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2014, 40(1): 26-30.
- [68] PARK S H, JANG S, LEE S W, et al. Akebia quinata Decaisne aqueous extract acts as a novel anti-fatigue agent in mice exposed to chronic restraint stress [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 222: 270-279.
- [69] PULAY A J, RÉTHELYI J M. Multimarker analysis suggests the involvement of BDNF signaling and microRNA biosynthesis in suicidal behavior [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2016, 171 (6) : 763-776.

[责任编辑 张丰丰]