

吸烟行为候选基因的研究进展

褚成静 杨彦春 张岚

吸烟是受到环境和遗传因素影响的复杂成瘾行为。有研究显示这一行为可分为不同的阶段:吸烟启动、规律使用、依赖、戒断、复燃^[1]。特殊的遗传易感性和某种环境的暴露可能起到增加吸烟风险的作用。双生子研究表明,遗传因素在吸烟启动,吸烟的维持和尼古丁依赖等吸烟行为中,都具有明显的作用^[2],与吸烟成瘾有关的基因至今尚无明确结论^[3]。关联研究是多基因疾病分子遗传学研究的主要方法,本文将着重从关联研究的角度对吸烟行为的分子遗传学研究进展做一综述。

一、多巴胺系统

1. 多巴胺受体:尼古丁是烟草中产生和保持依赖行为的主要精神活性成份。和其他成瘾物质一样,尼古丁能促进伏隔核细胞多巴胺的释放,在犒赏行为的形成和保持中起重要作用。多巴胺能受体至少分为 D₁ (D₁ 和 D₅) 和 D₂ (D₂、D₃ 和 D₄) 两大家族。多巴胺能受体中研究较多的是多巴胺 D₂ 受体 (DRD2) 基因,该基因的多态性 TaqI 能产生 DRD2 * A1 和 DRD2 * A2 两个等位基因,DRD2 * A1 能降低新纹状体多巴胺受体的表达,与当前吸烟、开始吸烟的年龄的风险增加有关^[4],也有两项研究显示 DRD2 * A1 与吸烟没有相关性^[5,6]。Munafò 等^[7]进行的系统评价认为:DRD2 TaqI A 的多态性与启动吸烟有关,但是研究证据较弱。Vandenbergh^[8]的研究发现:DRD2 的几个等位基因 (80, 82, 84, 86bp) 与吸烟的状态无关。而 DRD2 内含子 2 个简单串联重复序列 (STR) 与每天吸烟的数量 (SQ) 和吸烟严重指数 (heaviness of smoking index, HSI) 相关。Comings 等^[9]发现在 DRD1 基因的 5' 端一个功能未知的多态性与吸烟相关。DRD3 基因 S9G 的多态性中 G 等位基因与 Log-TTF (每天醒来吸第 1 支烟的时间的对数转换值) 和 HSI 有关。个体带有较长的 7 个重复的 DRD4-L 等位基因更具有渴求心理,容易被唤起,更加注意吸烟有关的线索^[10]。此外,Sullivan^[11]的研究显示 DRD5 基因的多态性与吸烟启动和进展成为尼古丁依赖 (nicotine dependence, ND) 无关。

2. 多巴胺转运体:多巴胺转运体基因 (dopamine transporter, SLC6A3) 编码多巴胺转运蛋白,该基因的变异会改变突触部位多巴胺的浓度。已经证实 SLC6A3 的 3' 非翻译区 (UTR) 的 VNTR 多态性与一些吸烟行为有关,SLC6A3 的 9 个拷贝的重复性变异 (SLC6A3-9) 导致脑内多巴胺转运蛋白的含量增加^[12],与线索诱导的渴求有关,降低成为吸烟者的可能 (尤其是带有 DRD2 * A1 等位基因的个体),增加戒烟的可能性^[13],但是研究结果并不一致^[14]。而 10-重复等位 (SLC6A3-10) 与多巴胺缺乏有关^[15]。Ling 等^[16]对中国的 253 个家系中 688 名吸烟者的研究发现:SLC6A3 的 3' -UTR 中 G→A 的多态性与早期开始吸烟以及尼古丁依赖有关。

3. 多巴胺脱羧酶:多巴胺脱羧酶 (dopa decarboxylase, DDC) 与多巴胺、去甲肾上腺素和 5-羟色胺的合成有关,所以成为 ND

易感性的候选基因。该基因位于 7p11 区域,Jennie 等^[17]发现单倍体型 T-G-T-G (rs921451-rs375723-rs1451371-rs2060762) 在非洲裔美国人 (AA) 人群是保护性因素,与 ND 呈负相关。T-G-T-G 的另一种组合 (rs921451-rs375723-rs1451371-rs3757472) 在欧洲裔美国人 (EA) 人群是主要的单倍体型,与 SQ, Fagerstrom 尼古丁依赖问卷 (FTND) 都正相关。值得注意的是 AA 人群的保护性 T-G-T-G 和 EA 人群的高风险性 T-G-T-G 共享前三个 SNP; 仅有 DDC 基因的 3' 末端的 SNP 不同,这一点提示:rs2060762 和 rs3757472 所在的区域里含有可能引起 DDC 对 ND 易感性产生不同的生理效应。但是由于这两个 SNP 在内含子区域,所以不能查明它们在 DDC 对 ND 里的功能。他们认为 rs921451、rs375723、rs1451371、rs2060762 和 rs3757472 这 5 个 SNP 可以作为进一步的相关分析 AA 和 EA 人群的 tagSNP。Yu 等对 DDC 的 18 个 SNPs 检测发现:rs12718541 在 EA 和 AA 人群中都显示出与 FTND 的明显相关。序列分析提示该位点可能是内含子酶切的一个增强子,还需要进一步研究 DDC 的可变的连接形式与 ND 易感性的关系^[18]。

4. 影响多巴代谢的基因:单胺氧化酶涉及到多巴胺的分解代谢,是造成个体对尼古丁依赖易感的候选基因,参与尼古丁成瘾和对新鲜刺激的行为反应过程。Agatsuma 等^[19]的动物实验证明:单胺氧化酶-A 是通过影响尼古丁的犒赏效应而不是对新颖刺激的行为反应,来增加个体对 ND 的易感性。以往的研究发现暴露于吸烟能降低脑内 MAO-A 和 MAO-B 的水平^[20]。Wiesbeck^[21]研究组发现 MAO-A 启动子区域的 30bp 功能性重复多态性的长度影响个体吸烟数量,高活性长等位基因 (4 个重复) 个体吸烟数量明显多于低活性短等位 (3 个重复) 个体。儿茶酚邻位甲基转移酶 (catechol-O-methyltransferase, COMT) 是涉及到神经递质多巴胺的降解和失活的酶,在尼古丁引起的药物犒赏调节中起重要作用。该基因 Val108/158Met 的多态性导致 COMT 活性 3~4 倍的降低。通过基于人群的病例对照和临床尼古丁替代治疗的两个独立研究发现:COMT 的这个变异影响欧洲女性的吸烟行为,与戒烟能力的个体差异有关^[22]。该位点的变异与中国人群的吸烟状态 (开始吸烟,持续吸烟或者戒烟) 无关,但是与开始吸烟的年龄和吸烟后严重程度有关^[23]。COMT 的其他 SNP (rs4680) 与 FTND, SQ, HSI 明显有关,单倍体型 A-G-T 在 AA 人群里有保护性作用, T-G-T 在 EA 里的保护性作用。AA 人群的单倍体型 C-A-T 是高风险因素, A-G-T 还具性别特异性,仅对 AA 女性有保护性, T-G-T 仅对 EA 男性有保护性, T-A-T 在 EA 男性是高风险单倍体型。研究显示了 COMT 对 ND 易感性的影响以及性别种族的效应^[24]。

二、尼古丁受体

尼古丁对中枢多巴胺能系统释放多巴胺的调节作用很大程度上是通过激活烟碱乙酰胆碱受体 (nicotinic acetylcholine receptors, nAChR) 完成的。其中 nAChR 的 α4 和 β2 是脑内最广泛表达,高亲和力的亚单位。对于尼古丁诱导的犒赏、尼古丁耐受和敏感性来说,α4 亚单位的活化是必需的^[25],编码 β2 亚单位的基因 CHRNA2 与尼古丁依赖之间关系的研究结果

并不一致^[26],而编码 $\alpha 4$ 亚单位的基因 CHRNA4 的 SNP (rs2273504,rs1044396)在 EA 人群里,和 SQ、HSI 及 FTND 分数中至少一个结果明显相关,AA 人群中单倍体型 (C-G-G) 53.4% 与 ND 负相关,成为保护性因素,该基因的 SNP 表现出种族特异性^[26]。Saccone^[27]对 ND 的 300 个候选基因中 3713 个 SNPs 进行研究时发现,尼古丁受体的 $\beta 3$ 亚单位 - CHRN3 的一个 SNP 与 ND 高度关联。他们同时得到一个新的发现:尼古丁受体的 $\alpha 5$ 亚单位 - CHRNA5 是目前较少研究的基因,它的一个非同义 SNP rs16969968 却成为 ND 最显著的风险因子,这种危险的等位基因以隐匿的方式遗传,带有它的纯合子个体具有 2 倍的发展成为 ND 的风险,这样的研究发现有待于被验证。此外,含有 $\alpha 6$ 亚单位的 nAChR 在尼古丁诱导的多巴胺释放过程中起作用^[28]。nAChR 的 $\alpha 7$ 亚单位的多态性还与精神分裂症患者的吸烟有相关性^[29]。

三、尼古丁的代谢

细胞色素酶 P-450 (Cytochrome P-450, CYP) 家系的 CYP2A6 酶是分解代谢尼古丁为失活的可替宁过程中主要的酶 (约 80% 的作用)。CYP2A6 基因的遗传变异影响 CYP2A6 酶的活性,从而与吸烟行为有关。O' Loughlin^[30]开展的一项对新吸烟者 (青少年) 的前瞻性研究发现:携带缺陷等位基因 CYP2A6 * 2 或者 * 4 的 1~2 个拷贝的个体反而增加了 ND 的风险,可能是因为低的尼古丁代谢导致脑暴露于尼古丁的时间延长,加强了它的神经生理过程,导致 ND。他们推测:在青少年即使短暂的尼古丁暴露也能引起一个长期的神经适应性改变。因此还需要更多的研究来证实 CYP2A6 的缺陷等位基因对吸烟的作用。Fukami 等^[31]比较了携带 CYP2A6 * 18 和 CYP2A6 * 19 等位基因的个体体内尼古丁代谢情况,在韩国人体内,携带 CYP2A6 * 1A/CYP2A6 * 7 杂合子的个体尼古丁代谢率明显低于 CYP2A6 * 1A/CYP2A6 * 1A 个体,携带 CYP2A6 * 7/CYP2A6 * 7, CYP2A6 * 7/CYP2A6 * 10, 和 CYP2A6 * 7/CYP2A6 * 19 个体的尼古丁代谢率显著低于携带 CYP2A6 * 1A/CYP2A6 * 1A 的个体,在白种人中没有得到这个结果。这些研究结果与 CYP2A6 * 19 等位基因降低 CYP2A6 酶活性的体外研究一致。另一个属于肝细胞色素 P-450 酶家系能分解尼古丁的是 CYP2D6 酶。个体带有缺陷等位基因 (CYP2D6 * 3, * 4, * 5) 的纯合子为弱代谢者,具有一个或两个功能等位基因 (CYP2D6 * 1 or * 2) 拷贝的称为过度代谢者,超过两个拷贝的称为超代谢者^[32]。该基因的多态性对于个体能否成为吸烟者没有影响,但是对已经开始吸烟的个体具有影响,因为研究发现重度吸烟的超代谢者该基因型的频率是不吸烟的 4 倍^[33]。

四、五羟色胺系统

五羟色胺系统涉及到神经心理活动的很多方面例如:情绪、睡眠、食欲、攻击和焦虑等,五羟色胺 2A (5-HT_{2A}) 基因的 102T>C 的多态性导致脑内 5-HT_{2A} 的低表达,这种多态性在不同的种族研究中分别与尼古丁依赖以及吸烟的维持相关^[34]。五羟色胺转运体基因 (5-HTT) 的启动子区域多态性 (5-HTTLPR) 有两个常见的等位-44-bp 的插入 (L 等位) 和缺失 (S 等位),这种多态性与日本人群的吸烟有关,带有 S/S 基因型的人较少成为吸烟者,更容易戒烟^[35]。Kremer 等^[36]研究了吸烟行为与 5-羟色胺转运体基因的多态性的关系,发现所有吸烟者体内带有 12 个重复的 VNTR 长等位基因的 5-HTTLPR 明显多于不吸烟者 (P=0.0004)。这一多态性引起吸烟行为的危险度为 1.37。色氨酸羟化酶基因 (TPH) 2 个等位基因 (C218A, C779A) 的基因型和单倍体型频率都显著的与吸烟启动相关,

但是与 ND 进展无关。

五、其他候选基因

还有一些潜在的候选基因也显示出与尼古丁依赖的相关性。GABAA 受体相关蛋白 (GABAA receptor-associated protein, GABARAP) 属于微管相关蛋白家族,与 GABAA 受体作用,能加速神经元的质膜运动。在此区域里存在 GABAA 受体基因序列,Lou 等^[37]在美国的欧洲人 (EA) 人群中发现,GABAA 受体相关蛋白 (GABARAP) 基因的 SNPs (rs17710, rs222843) 与 ND 相关,而在美国的非洲人 (AA) 人群中却没有这样的相关。这个区域还含有一个基因 DLG4, 又叫做突触后密度-95 蛋白 (post-synaptic density-95 protein, PSD95), 在 NMDA 受体与控制双向突触可塑性和学习的途径耦联过程中有重要作用^[38], 在他们的研究中发现了 DLG4 与 ND 也存在关联。GABAB (GABA-B型受体亚单位基因) 编码 GABAB 受体,位于 9 号染色体 q22 与 ND 连锁的区域,Beuten 等^[39]发现 GABAB 的 6 个 SNPs 分别在 AA 人群和 EA 人群中与 ND 明显相关,单倍体型 (C-C-G) 与 ND 显著正相关,在 EA 人群 C-A-C-A 与 ND 负相关,T-A-T-A 与 ND 正相关。提示了 GABAB2 基因在 ND 的病因学中的重要作用。

双生子和寄养子的研究都显示:在吸烟的起始、消耗烟草总量以及戒断等方面都受到遗传因素影响,遗传因素涉及到的众多基因在不同的生物途径中又相互影响。通过基因表达芯片结果与生物信息学技术相结合,可以筛选出更多可能的候选基因^[40],为预防吸烟行为鉴别出高危个体。这些基因编码的蛋白和涉及到的信号通路可以成为采取新的干预措施的合理目标。总之,在吸烟行为的遗传学方面的研究进展,将为预防和治理这一行为提供更多可行的思路。

参 考 文 献

- [1] Malaiyandi V, Sellers EM, Tyndale RF. Implications of CYP2A6 genetic variation for smoking behaviors and nicotine dependence. Clin Pharmacol Ther, 2005, 77: 145-158.
- [2] Jacqueline M, Vink JM, Willemsen G, et al. Heritability of smoking initiation and nicotine dependence. Behav Genet, 2005, 35: 397-406.
- [3] 顾朱勤, 陈彪. 吸烟相关基因的研究进展. 中国行为医学科学, 2006, 15: 571-572.
- [4] Noble EP, St Jeor ST, Ritchie T, et al. D2 dopamine receptor gene and cigarette smoking: a reward gene? Med Hypotheses, 1994, 42: 257-260.
- [5] Singleton AB, Thomsom JH, Morris CM, et al. Lack of association between the dopamine D2 receptor gene allele DRD2 * A1 and cigarette smoking in a United Kingdom population. Pharmacogenetics, 1998, 8: 125-128.
- [6] Johnstone EC, Yudkin P, Griffiths SE, et al. The dopamine D2 receptor C3280G polymorphism (DRD2 Taq1A RFLP) exhibits no association with smoking behaviour in a healthy UK population. Addict Biol, 2004, 9: 221-226.
- [7] Munafu M, Clark T, Johnstone E, et al. The genetic basis for smoking behavior: a systematic review and meta-analysis. Nicotine Tob Res, 2004, 6: 583-597.
- [8] Vandenberg DJ, O' Connor RJ, Grant MD, et al. Dopamine receptor genes (DRD2, DRD3 and DRD4) and gene-gene interactions associated with smoking-related behaviors. Addict Biol, 2007, 12: 106-116.
- [9] Comings DE, Gade R, Wu S, et al. Studies of the potential role of the dopamine D1 receptor gene in addictive behaviors. Mol Psychiatry, 1997, 2: 44-56.
- [10] Hutchison KE, LaChance H, Niaura R, et al. The DRD4 VNTR polymorphism influences reactivity to smoking cues. J Abnorm Psychol, 2002, 111: 134-143.
- [11] Sullivan PF, Neale MC, Silverman MA, et al. An association study of DRD5 with smoking initiation and progression to nicotine dependence.

- Am J Med Genet, 2001, 105: 259-265.
- [12] Gelenter J, Kranzler HR, Satel SL, et al. Genetic association between dopamine transporter protein alleles and cocaine-induced paranoia. *Neuropsychopharmacology*, 1994, 11: 195-200.
- [13] Sabol SZ, Nelson ML, Fisher C, et al. A genetic association for cigarette smoking behavior. *Health Psychol*, 1999, 18: 7-13.
- [14] Vandenbergh DJ, Bennett CJ, Grant MD, et al. Smoking status and the human dopamine transporter variable number of tandem repeats (VN-TR) polymorphism: failure to replicate and finding that never-smokers may be different. *Nicotine Tob Res*, 2002, 4: 333-340.
- [15] Comings DE, Wu S, Chin C, et al. Polygenic inheritance of Tourette syndrome, stuttering, attention deficit hyperactivity, conduct, and oppositional defiant disorder; the additive and subtractive effect of the three dopaminergic genes-DRD2, D β H, and DAT1. *Am J Med Genet*, 1996, 67: 264-288.
- [16] Ling D, Niu T, Feng Y, et al. Association between polymorphism of the dopamine transporter gene and early smoking onset; an interaction risk on nicotine dependence. *J Hum Genet*, 2004, 49: 35-39.
- [17] Ma JZ, Beuten J, Payne TJ, et al. Haplotype analysis indicates an association between the DOPA decarboxylase (DDC) gene and nicotine dependence. *Hum Mol Genet*, 2005, 14: 1691-1698.
- [18] Yu Y, Panhuysen C, Kranzler HR, et al. Intronic variants in the dopa decarboxylase (DDC) gene are associated with smoking behavior in European-Americans and African - Americans. *Human Molecular Genetics*, 2006, 15: 2192-2199.
- [19] Agatsuma S, Lee M, Zhu H, et al. Monoamine oxidase A knockout mice exhibit impaired nicotine preference but normal responses to novel stimuli. *Hum Mol Genet*, 2006, 15: 2721-2731.
- [20] Fowler JS, Volkow ND, Wang GJ, et al. Brain monoamine oxidase A inhibition in cigarette smoker. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 14065-14069.
- [21] Wiesbeck GA, Wodarz N, Weijers HG, et al. A functional polymorphism in the promoter region of the monoamine oxidase A gene is associated with the cigarette smoking quantity in alcohol-dependent heavy smokers. *Neuropsychobiology*, 2006, 53: 181-185.
- [22] Colilla S, Lerman C, Shields PG, et al. Association of catechol-O-methyltransferase with smoking cessation in two independent studies of women. *Pharmacogenomics*, 2005, 15: 393-398.
- [23] Guo S, Chen da F, Zhou DF, et al. Association of functional catechol O-methyl transferase (COMT) Val108Met polymorphism with smoking severity and age of smoking initiation in Chinese male smokers. *Psychopharmacology*, 2007, 190: 449-456.
- [24] Beuten J, Payne TJ, Ma JZ, et al. Significant association of catechol-O-methyltransferase (COMT) haplotypes with nicotine dependence in male and female smokers of two ethnic populations. *Neuropsychopharmacology*, 2006, 31: 675-684.
- [25] Tapper AR, McKinney SL, Nashmi R, et al. Nicotine activation of alpha4 * receptors; sufficient for reward, tolerance, and sensitization. *Science*, 2004, 306: 1029-1032.
- [26] Li MD, Beuten J, Ma JZ, et al. Ethnic- and gender-specific association of the nicotinic acetylcholine receptor alpha4 subunit gene (CHRNA4) with nicotine dependence. *Hum Mol Genet*, 2005, 14: 1211-1219.
- [27] Saccone SF, Hinrichs AL, Saccone NL, et al. Cholinergic nicotinic receptor genes implicated in a nicotine dependence association study targeting 348 candidate genes with 3713 SNPs. *Hum Mol Genet*, 2007, 16: 36-49.
- [28] Papke RL, Dwoskin LP, Crooks PA. The pharmacological activity of nicotine and normicotine on nAChRs subtypes; relevance to nicotine dependence and drug discovery. *Journal of Neurochemistry*, 2007, 101: 160-167.
- [29] De Luca V, Wong AH, Muller DJ, et al. Evidence of association between smoking and alpha7 nicotinic receptor subunit gene in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacology*. 2004, 29: 1522-1526.
- [30] O' Loughlin J, Paradis G, Kim W, et al. Genetically decreased CYP2A6 and the risk of tobacco dependence; a prospective study of novice smokers. *Tob Control*, 2004, 13: 422-428.
- [31] Fukami T, Nakajima M, Higashi E, et al. Characterization of novel CYP2A6 polymorphic alleles (CYP2A6 * 18 and CYP2A6 * 19) that affect enzymatic activity. *Drug Metabolism and Disposition*, 2005, 33: 1202-1210.
- [32] Lovlie R, Daly AK, Molven A, et al. Ultrarapid metabolizers of desbrisoquine; characterization and PCR-based detection of alleles with duplication of the CYP2D6 gene. *FEBS Lett* 1996; 392: 30-34.
- [33] Saarikoski ST, Sata F, Husgafvel-Pursiainen K, et al. CYP2D6 ultrarapid metabolizer genotype as a potential modifier of smoking behaviour. *Pharmacogenetics*, 2000, 10: 5-10.
- [34] Terayama H, Itoh M, Fukunishi I, et al. The serotonin-2A receptor polymorphism and smoking behavior in Japan. *Psychiatr Genet*, 2004, 14: 195-197.
- [35] Ishikawa H, Ohtsuki T, Ishiguro H, et al. Association between serotonin transporter gene polymorphism and smoking among Japanese males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1999, 8: 831-833.
- [36] Kremer I, Bachner-Melman R, Reshef A, et al. Association of the Serotonin Transporter Gene With Smoking Behavior. *Am J Psychiatry*, 2005, 162: 924-930.
- [37] Lou XY, Ma JZ, Sun D, et al. Fine mapping of a linkage region on chromosome 17p13 reveals that GABARAP and DLG4 are associated with vulnerability to nicotine dependence in European-Americans. *Hum Mol Genet*, 2007, 16: 142-153.
- [38] El-Husseini AE, Schnell E, Chetkovich DM, et al. PSD-95 involvement in maturation of excitatory synapses. *Science*, 2000, 290: 1364-1368.
- [39] Beuten J, Ma JZ, Payne TJ, et al. Single- and multilocus allelic variants within the GABA(B) receptor subunit 2 (GABAB2) gene are significantly associated with nicotine dependence. *Am J Hum Genet*, 2005, 76: 859-864.
- [40] Sullivan PF, Neale BM, van den Oord E, et al. Candidate genes for nicotine dependence via linkage, epistasis, and bioinformatics. *Am J Med Genet*, 2004, 126B: 23-36.

(收稿日期: 2009-05-03)

(本文编辑: 冯学泉)