

# 5-HT<sub>2A</sub>受体基因 1438A/G 多态性与海洛因依赖的关系<sup>1</sup>

\*赵敏<sup>2</sup> 杨德森<sup>2</sup> 郝伟<sup>2</sup> 张向晖<sup>2</sup> 张亚林<sup>2</sup> 李凌江<sup>2</sup> 刘铁桥<sup>2</sup>  
<sup>2</sup> (湖南医科大学附二院精神卫生研究所, 长沙, 410011)

**摘要:** 目的: 探讨 5-HT<sub>2A</sub>受体基因多态性与海洛因依赖易感性的关系。方法: 用聚合酶链式反应 (PCR) 技术结合限制性片段长度多态性 (RFLP) 分析技术, 检测了 99 名海洛因依赖者和 80 名正常对照者 5-HT<sub>2A</sub>受体基因 1438A/G 多态性的基因型和等位基因频率。结果: 海洛因依赖者 5-HT<sub>2A</sub>受体基因 1438A/G 多态性基因型 A1/A2 的频率较对照组高。结论: 5-HT<sub>2A</sub>受体基因 1438A/G 多态性可能与海洛因依赖的易感性有关。

**关键词:** 海洛因依赖; 多态性; 5-HT<sub>2A</sub>受体基因

物质依赖是一组复杂的疾病, 它是个体素质因素与环境因素相互作用所致。对药物依赖的易感性存在种族和个体的差异, 家系调查、双生子研究、寄养子研究、部分生化研究及现代分子遗传学研究都支持遗传因素在物质依赖中起一定的作用<sup>[1-2]</sup>。随着近代分子生物学向各个学科的渗透, 对药物依赖的分子遗传学研究也日益受到人们的关注。5-羟色胺 (5-HT) 是一种重要的神经递质, 在中枢分布十分广泛, 参与了各种精神活动的调节, 许多研究证实 5-HT 与物质依赖有关<sup>[3-4]</sup>, 如发现 5-HT 重吸收抑制剂可减少酒的使用量, 5-HT 部分拮抗剂可减轻对可卡因的渴求, 5-HT<sub>1B</sub>受体缺乏的小鼠易形成海洛因依赖, 酒精强化作用及对酒精的偏好与 5-HT 受体的密度有关。目前尚未见 5-HT 受体基因是否与海洛因依赖关系方面的研究报道, 本研究选择 5-HT<sub>2A</sub>受体基因 1438A/G 多态性位点为研究靶点, 探讨其与海洛因依赖的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

99 例海洛因依赖组来自于湖南省新开铺劳教所的吸毒劳教人员, 80 例对照组来自湖南医科大学的自愿者及湖南医科大学精研所部分医护人员。入组标准: 年龄>15a, 汉族, 排除严重的躯体疾病、遗传疾病及重性精神疾病者, 海洛因依赖组均符合 DSM-III-R 海洛因依赖诊断标准。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 提取人类 gDNA:** 采抗凝静脉血 5ml, 采用常规酚氯仿法提取外周血基因组 DNA (gDNA)。

**1.2.2 5-HT<sub>2A</sub>受体基因 1438A/G 多态性分析:** 人类 5-HT<sub>2A</sub>受体基因启动子区 1438 位有 A 或 G 碱基变化, 从而形成该基因启动子区 1438A/G 多态性, 如果 1438 位为碱基 G, 则形成一个 MspI 酶切位点<sup>[5]</sup>, 本研究采用 Warren 等设计的 RFLP 方法<sup>[5]</sup>, 选择 PCR 扩增引物引导合成包括 5-HT<sub>2A</sub>受体基因 1438A/G 多态性位点长 468bp 的 DNA 片段, 如果 5-HT<sub>2A</sub>受体基因 1438 位为碱基 A, PCR 产物不能被 MspI 酶切, 仍为 468bp, 如果 1438 位为碱基 G, PCR 产物被 MspI 酶切成 244bp 和 224bp 两个片段。如两条等位基因 1438 位均为碱基 A 时, 判断该个体的基因型为 A1/A1, 如两条等位基因 1438 位均为碱基 G 时, 判断该个体的基因型为 A2/A2, 如两条等位基因分别为 A1 和 A2 时, 判断该个体的基因型为 A1/A2 (见图 1)。

PCR 扩增引物<sup>[5]</sup>为 5'-AAG CTG CAA GGT AGC AAC AGC -3'和 5'-AAC CAA CTT ATT TCC TAC CAC-3'。PCR 反应体系: 100ng 模板 DNA, dNTP 各 200uM, 1×Tag Buffer (含 MgCl<sub>2</sub> 1.5mM), 上、下游引物各 0.5uM, Tag DNA 聚合酶 1U, 20ul 反应体积。PCR 反应条件: 94°C 预变性 5min, 94°C 变性 40s, 59°C 复性 30s, 72°C 延伸 40s, 共 35 个循环, 72°C 延伸 10min。取 10ul PCR 产物, 加 MspI 10U, 1×MspI buffer, 15ul 反应体积, 37°C 酶切反应 5h。酶切产物在含有 EB 的 2.5%琼脂糖凝胶中电泳 (75V, 1h), 紫外灯下观察结果, 照像。

<sup>1</sup> 此课题为 CMB 资助课题

\*赵敏: 目前在上海市精神卫生中心工作(200030)

### 1.3 统计分析

所有资料的统计均由 SPSS 8.0 for windows 在 586 计算机上完成。根据 Hardy-weinberg 定律, 比较各基因型的实得数与预期数, 了解各基因型在人群中遗传平衡符合程度, 用  $\chi^2$  检验; 比较两组间各基因型及等位基因的频率的差异, 用  $\chi^2$  检验。

## 2 实验结果

### 2.1 一般资料

共分析了海洛因依赖者 99 例, 其中男性占 61.6% (61 例), 女性 38.4% (38 例), 均为汉族, 平均年龄  $28.3a \pm s6.7a$ 。正常对照者 80 例, 其中男性占 60.0% (48 例), 女性 40.0% (32 例), 均为汉族, 平均年龄  $23.5a \pm s6.5a$ 。两组在性别、年龄组成上无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 两组人群 Hardy-weinberg 遗传平衡检验

为了解两组研究人群是否为遗传平衡群体, 用  $\chi^2$  检验法分别对海洛因依赖组和正常对照组进行了 Hardy-weinberg 遗传平衡检验, 结果显示, 两组人群均符合 Hardy-weinberg 遗传平衡 ( $df=1, P > 0.05$ ), 说明这两个研究人群来自大的群体, 个体间是随机婚配, 不存在明显的自然选择、迁移等因素对遗传平衡的影响。

### 2.3 5-HT<sub>2A</sub> 受体基因启动子区 1438A/G 多态性位点 RFLP 分析

5-HT<sub>2A</sub> 受体基因启动子区 1438A/G 多态性位点 RFLP 分析电泳结果见图 1, 海洛因依赖组和正常对照组 5-HT<sub>2A</sub> 受体基因启动子区 1438A/G 多态性的基因型及等位基因频率见表 1。

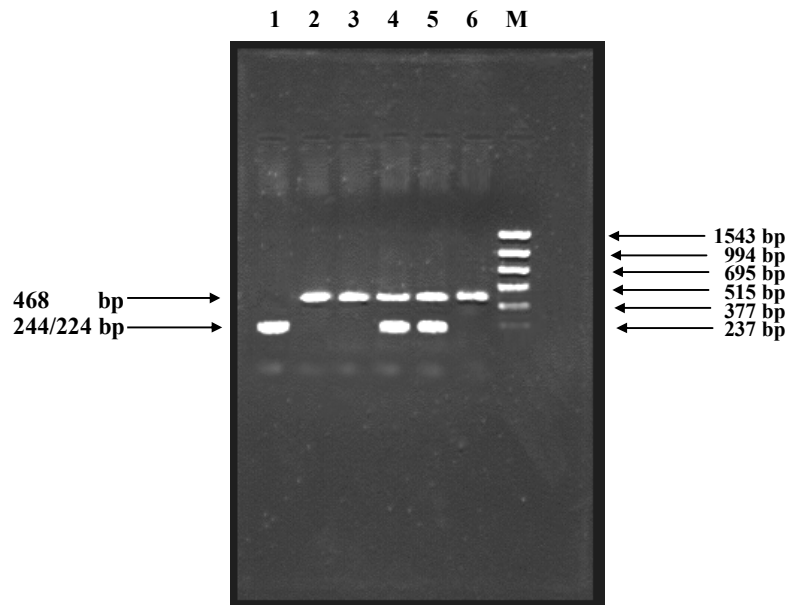


图 1 5-HT<sub>2A</sub> 基因 1438A/G 位点 RFLP 分析

M: PCR Marker 2、3、6: 基因型 A1/A1

4、5: 基因型 A1/A2 1: 基因型 A2/A2

表 1 结果显示, 海洛因依赖者的基因型 A1/A1 明显少于对照组, 基因型 A1/A2 的频率明显高于对照组, 提示基因型 A1/A2 与海洛因易感性有关, A1、A2 等位基因在两组间分布无显著性差异。

表1 海洛因依赖组与正常对照组5-HT<sub>2A</sub>受体基因多态性比较

基因型 / 等位基因	海洛因依赖组	对照组	x <sup>2</sup> 值	P值
	(n=99)	(n=80)		
A1/A1	28 (28.3%)	35 (43.8%)	4.64	0.03
A1/A2	57 (57.6%)	34 (42.5%)	4.02	0.04
A2/A2	14 (14.1%)	11 (13.8%)	0.00	0.94
A1	113 (57.1%)	104 (65.0%)	2.33	0.13
A2	85 (42.9%)	56 (35.0%)		

### 3 讨论

物质依赖虽然与社会文化及心理因素密切相关,但成瘾物质作为一种特殊的药物,其对机体的作用过程也受遗传的影响。寻找精神分裂症、情感性疾病、物质依赖等疾病的致病基因或易感基因是精神疾病分子遗传学研究的热点之一,对于遗传机制复杂的精神疾病,研究其“候选基因”是一种有效的方法。有关物质依赖机制的假说认为药物依赖与中脑-前脑-边缘系统的阿片肽系统、多巴胺系统、5-HT 系统等有关<sup>[7]</sup>,5-HT 是一种重要的神经递质,参与了各种精神活动的调节,大量研究<sup>[3-4]</sup>证实 5-HT 与物质依赖有关,5-HT 受体基因敲除的小鼠易形成自我注射可卡因的行为。本研究选择了 5-HT<sub>2A</sub> 受体基因 1438A/G 这一多态性位点,采用关联分析的方法,分析了海洛因依赖与 5-HT<sub>2A</sub> 受体基因的关系,关联分析是分析多因素影响疾病遗传效应的一种有效方法,它能发现对疾病作用微小的基因。本研究结果显示,5-HT<sub>2A</sub> 受体基因基因型 A1/A2 的频率明显高于正常对照者,说明其与海洛因依赖相关联,5-HT<sub>2A</sub> 基因可能是海洛因依赖的易感基因或存在连锁不平衡,至于其对于海洛因依赖的作用机制,有待于进一步研究,成瘾药物进入中枢神经系统,引起神经递质的改变,进而影响情绪、记忆、选择性注意、继发性强化等而中介成瘾过程,5-HT<sub>2A</sub> 受体的不同基因型可能影响成瘾物质对神经递质的反应性,从而影响成瘾的易感性。迄今为止,本研究是首次有关海洛因依赖与 5-HT<sub>2A</sub> 基因的报道,因此,本研究结果是初步的,需要在更大的样本及不同人群中进行进一步的研究,才能得出肯定一致的结论。

### 4 参考文献

- 1 Myers RD, Robinson DE, West MW, et al. Genetics of alcoholism: rapid development of a new high-ethanol-preferring (HEP) strain of female and male rats. *Alcohol*, 1998, 16(4):343-357.
- 2 Tsuang MT, Lyons MJ, Eisen SA, et al. Genetic influences on DSM-III-R drug abuse and dependence: a study of 3372 twin pairs. *Am J Med Genet*, 1996, 67: 473-477.
- 3 Devoto P, Colombo G, Stefanini E, et al. Serotonin is reduced in the frontal cortex of Sardinian ethanol-preferring rats. *Alcohol*, 1998, 33(3): 226-229.
- 4 Buydens-Branchey L, Branchey M, Fergeson P, et al. Craving for cocaine in addicted users. Role of serotonergic mechanisms. *Am J Addict*, 1997, 6(1): 65-73.
- 5 Chen K, Yang W, Grimsby J, et al. The human 5-HT<sub>2</sub> receptor is encoded by multiple intron-exon gene. *Mol Brain Res*, 1992, 14: 20-26.
- 6 Warren JT, Peacock ML, Roderiguez LC, et al. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR2): Detected by DGE and RFLP analysis. *Hum Mol Gene*, 1993, 2: 338.
- 7 Koob GF. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathway. *Trends Pharmacol Sci*, 1992, 13: 177-184.

### HEROIN DEPENDENCE VULNERABILITY AND THE 1438A/G

## **POLYMORPHISM OF 5-HT<sub>2A</sub> RECEPTOR GENE AND HEROIN ADDICTS IN CHINESE**

ZHAO Min<sup>1</sup>, YANG Desen<sup>2</sup>, HAO Wei<sup>2</sup>, ZHANG Xianghui<sup>2</sup>, ZHANG Yalin<sup>2</sup>,  
LI Lingjiang<sup>2</sup>, LIU Teqiao<sup>2</sup>

<sup>2</sup>(Shanghai Mental Health Center, Shanghai, 200030, China)

<sup>1</sup> (Mental Health Institute, Hunan Medical University, Changsha, 410011, China)

**ABSTRACT** Objective: To explore the association between the 1438A/G polymorphism of human 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene and heroin addicts in Chinese. Method: Genotype and allele frequencies of 1438A/G polymorphism of 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene were examined by PCR and RFLP technique in 99 Chinese heroin addicts and 80 Chinese controls. Result: The genotype A1/A2 frequency of 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene in heroin addicts is significantly higher than that in control group. Conclusion: The 1438A/G polymorphism of 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene is associated with heroin abuse in Chinese.

**KEY WORDS** heroin addict; polymorphism; 5-HT<sub>2A</sub> receptor gene