

β -arrestin2 基因多态性与湖南省汉族海洛因成瘾者美沙酮维持治疗反应的关联分析

罗芮 冯湘玲 罗希 刘志胜 胡佩武 刘姝 李杏莉

410078 长沙,中南大学湘雅公共卫生学院流行病与卫生统计教研室(罗芮、罗希、刘志胜、刘姝、李杏莉),中心实验室(冯湘玲);410008 长沙,中南大学湘雅医院科研部(胡佩武)

通信作者:李杏莉, Email:lixingli@csu.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.06.026

【摘要】 目的 研究 β -arrestin2(*ARRB2*)基因的3个单核苷酸多态性(SNP)位点 rs3786047、rs1045280、rs2036657 在湖南省汉族海洛因成瘾者中的分布及其与美沙酮维持治疗反应的相关性。方法 从湖南省美沙酮维持治疗门诊中随机抽取4个门诊,以汉族美沙酮维持治疗者作为研究对象,收集研究对象的一般社会经济学特征、相关吸毒史和美沙酮治疗史资料,测定 *ARRB2* 基因多态性位点的基因型以分析 SNP 位点与治疗反应的关系。结果 *ARRB2* 基因 rs3786047、rs1045280、rs2036657 SNP 位点在不同治疗反应组基因型分布频率符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡。在治疗反应好与差两组间,rs3786047 ($\chi^2=0.486\ 2, P=0.784$)、rs1045280 ($\chi^2=1.591\ 9, P=0.451$)、rs2036657 ($\chi^2=1.061\ 5, P=0.588$)的基因型频率分布和等位基因频率分布差异无统计学意义。结论 湖南省汉族美沙酮维持治疗人群中尚未发现 *ARRB2* 基因单核苷酸多态位点 rs3786047、rs1045280、rs2036657 与治疗反应有关联关系。

【关键词】 美沙酮维持治疗; *ARRB2* 基因; 单核苷酸多态性; 治疗反应

基金项目:国家自然科学基金(81202257);中南大学教师研究基金(2013JSJJ032);教育部留学回国人员科研启动基金

Association between β -arrestin2 genetic polymorphism and response to methadone maintenance treatment in heroin-dependent patients in Han population in Hunan province

Luo Rui, Feng Xiangling, Luo Xi, Liu Zhisheng, Hu Peiwu, Liu Shu, Li Xingli

Department of Epidemiology and Health Statistics (Luo R, Luo X, Liu ZS, Liu S, Li XL), Central Laboratory (Feng XL), Xiangya School of Public Health, Central South University, Changsha 410078, China; Department of Scientific Research, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China (Hu PW)

Corresponding author: Li Xingli, Email: lixingli@csu.edu.cn

【Abstract】 Objective To study the distributions of three single nucleotide polymorphisms (SNPs) in β -arrestin2 (*ARRB2*) which including rs3786047, rs1045280 and rs2036657 and to elucidate the relationship between these SNPs and response to methadone maintenance treatment (MMT) among heroin-dependent patients of Han ethnicity population in Hunan. **Methods** Han MMT patients were recruited in four random-chosen MMT clinics from Hunan province. Demographics, history of drug-use and MMT were recorded. *ARRB2* SNPs were genotyped to determine the association between SNPs and response to MMT. **Results** Distributions of the three SNPs were in Hardy-Weinberg equilibrium in both groups (responders vs. non-responders). There was no statistical significance in the distribution frequency of genotype on rs3786047 ($\chi^2=0.486\ 2, P=0.784$), rs1045280 ($\chi^2=1.591\ 9, P=0.451$) and rs2036657 ($\chi^2=1.061\ 5, P=0.588$) in *ARRB2* among the responders or the non-responders. **Conclusion** Associations between the *ARRB2* genotypes, rs3786047, rs1045280 and rs2036657, and MMT response in Han MMT patients in Hunan province did not appear.

【Key words】 Methadone maintenance treatment; *ARRB2* genes; Single nucleotide polymorphism; Treatment response

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81202257); Teacher Research Foundation of Central South University (2013JSJJ032); Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, State Education Ministry

海洛因等阿片类毒品成瘾是重要的公共卫生问题。美沙酮维持治疗是针对阿片类毒品成瘾者的一种应用最广泛的替代治疗方法^[1-3]。但目前美沙酮维持治疗普遍存在脱失率较高,偷吸现象明显等特点^[4]。美沙酮维持治疗效果个体差异明显且受多种因素的影响,基因在其中可能发挥着重要作用^[5-8]。近几年开始关注基因多态性对美沙酮维持治疗疗效的影响,但多集中于国外人群,国内相关研究少见。基于基因变异在不同人种中相差很大,因此在汉族人群中开展相关研究具有一定的意义和价值。G蛋白耦联受体(G Protein Coupled Receptor, GPCR)是生物体细胞膜表面最大的受体家族,该受体家族识别多种激素和神经递质,在调节脑内递质释放等起到了重要作用^[9]。 β -arrestin2(ARRB2)是GPCRs信号通路的负反馈调控蛋白,介导受体的脱敏反应。阿片受体属于GPCRs家族,ARRB2作用于阿片受体会引起对阿片类毒品的耐受^[10]。因此,本研究拟在湖南省汉族美沙酮维持治疗者中,探讨海洛因成瘾者美沙酮维持治疗反应与ARRB2基因多态性的关联。

对象与方法

1. 研究对象:收集研究对象的一般社会经济学特征、相关吸毒史和美沙酮治疗史资料。采用病例-对照研究方法进行设计。从湖南省美沙酮维持治疗门诊中随机抽取4所,对符合研究条件的治疗者进行调查。入组标准:①汉族居民;②已接受美沙酮维持治疗至少2个月;③具有稳定的治疗剂量。排除标准:患有严重躯体疾病和精神疾病。

2. 治疗反应的定义:“治疗反应好”:①治疗期间自报告不使用阿片类毒品;②自述无躯体戒断症状;③具有稳定治疗剂量和治疗频率;④随访2个月期间,每周随机尿检均为阴性或有一次为阳性。“治疗反应差”:①治疗过程中自报告使用过阿片类毒品;②自述有戒断症状;③随访2个月期间,在每周随机尿检中至少有2次以上阳性;④缺乏稳定治疗剂量和治疗频率。

3. 基因型检测:取研究对象5 ml抗凝血,采用DNA提取试剂盒[Relax Gene Blood DNA system,天根生化(北京)科技有限公司]提取外周血中的DNA,并测定浓度。结合多重PCR技术、MassARRAY iPLEX单碱基延伸技术扩增ARRB2基因的目标片段,基质辅助激光解析电离飞行时间质谱分析检测目标SNP基因型。

4. 统计学处理:统计学处理均由R软件完成。计量资料组间比较采用 t 检验和Mann-Whitney U 检验;计数资料组间比较采用 χ^2 检验。使用 χ^2 检验检测各组的位点基因型的分布是否符合Hardy-Weinberg(H-W)遗传平衡定律;组间基因型及等位基因频率比较采用 χ^2 检验,对ARRB2基因多态性位点与美沙酮维持治疗反应关联进行分析。采用logistics回归分析进行校正,计算调整后 P 值和OR值(95%CI)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况:共纳入汉族美沙酮维持治疗者681名。其中,治疗反应好者182名(男性152名,女性30名);年龄最小者23岁,最大者64岁,平均(44.16 \pm 8.217)岁。治疗反应差者499名(男性396名,女性103名);年龄最小者23岁,最大者65岁,平均(42.69 \pm 7.683)岁。治疗反应好者中离异/丧偶占18.7%(34/182),未婚占37.4%(68/182),已婚占43.9%(80/182);文化程度8.8%(16/182)为小学及以下,53.3%(97/182)为初中,37.9%(69/182)具有高中或中专及以上水平;18.1%(33/182)的治疗反应好者有工作,81.9%(149/182)待业或无业。治疗反应差者的离异/丧偶占13.8%(69/499),未婚占35.7%(178/499),已婚占50.5%(252/499)。10.4%(52/499)为小学及以下文化程度,56.3%(281/499)为初中,33.3%(166/499)为高中或中专及以上;治疗反应差者20.8%(104/499)有工作,79.2%(395/499)待业或无业。不同治疗反应组间年龄分布差异有统计学意义($t=2.1073$, $P=0.036$);性别($\chi^2=1.2143$, $P=0.271$)、婚姻状况($\chi^2=3.3546$, $P=0.187$)、文化程度($\chi^2=1.4072$, $P=0.495$)和就业状况($\chi^2=0.4524$, $P=0.501$)差异无统计学意义。

2. 美沙酮维持治疗者的相关吸毒行为特征:治疗反应好组:平均吸毒(15.55 \pm 5.712)年,平均从(28.60 \pm 8.612)岁开始吸毒,从吸毒到参加美沙酮维持治疗经历(10.78 \pm 5.164)年,之后参加美沙酮维持治疗(4.59 \pm 2.037)年;91.2%(166/182)的治疗者参加过戒毒;81.9%(149/182)的治疗反应好者第一次参加美沙酮维持治疗,8.8%(16/182)第二次参加,9.3%(17/182)参加次数 ≥ 3 次;近半年来,92.9%(169/182)只单纯使用海洛因,13.7%(25/182)单纯口吸或烫吸毒品,82.4%(150/182)单纯采用注射,3.8%(7/182)既注射毒品又口吸或烫吸。治疗反应差组:平均吸毒(14.87 \pm 5.994)年,平均从(27.81 \pm

7.822)岁开始吸毒,从吸毒到参加美沙酮维持治疗经历(10.39±5.708)年,之后参加美沙酮维持治疗(4.19±2.408)年;85.8%(428/499)的治疗者参加过戒毒;59.9%(299/499)的治疗反应差者第一次参加美沙酮维持治疗,24.4%(122/499)第二次参加,15.6%(78/499)参加次数≥3次。近半年来,95.4%(476/499)只单纯使用海洛因,25.3%(126/499)单纯口吸或烫吸毒品,69.5%(347/499)单纯采用注射,5.2%(26/499)既注射毒品又口吸或烫吸。美沙酮维持治疗的不同治疗反应组参加治疗的次数($\chi^2=29.683$, $P<0.001$)和近半年来的吸毒方式($\chi^2=11.517$, $P<0.001$)的差异具有统计学意义。两组的吸毒史($W=48\ 326$, $P=0.199$)、开始吸毒年龄($W=47\ 138$, $P=0.446$)、从开始吸毒到开始服药的时长($W=47\ 830$, $P=0.287$)和参加治疗的时间($W=51\ 785$, $P=0.099$),是否参加戒毒($\chi^2=3.067\ 0$, $P=0.080$),目前主要使用的毒品($\chi^2=1.241\ 2$, $P=0.265$),差异无统计学意义。

3. H-W 遗传平衡检验: *ARRB2* 基因的 rs3786047、rs1045280、rs2036657 多态性位点分布在不同治疗反应组中符合 H-W 遗传平衡($P>0.05$),提示研究所选样本具有代表性(表 1)。

4. *ARRB2* 基因等位基因及基因型分析:对不同治疗反应组 *ARRB2* 基因 rs3786047、rs1045280、

表 1 美沙酮维持治疗不同反应组 H-W 遗传平衡检验

位点	位置	等位基因	治疗反应好		治疗反应差	
			χ^2 值	<i>P</i> 值	χ^2 值	<i>P</i> 值
rs3786047	Intron 1	1082G>A	0.034 25	0.811	0.350 26	0.566
rs1045280	Exon 11	8622T>C	0.510 65	0.506	0.867 14	0.380
rs2036657	3'UTR	111436A>G	0.258 59	0.502	0.652 30	0.479

rs2036657 多态性位点的基因型和等位基因分析显示:不同治疗反应组间 3 个位点的等位基因频率和基因型频率差异均无统计学意义。未发现 rs3786047、rs1045280 和 rs2036657 SNP 与美沙酮维持治疗的不同治疗反应有相关性(表 2)。

讨 论

美沙酮维持治疗效果存在明显的个体差异,基因多态性与美沙酮治疗疗效的关系一直受到关注,美沙酮代谢相关基因,如 *CYP3A4*^[11]、*CYP2D6*^[11]、*CYP2B6*^[6]、*ABCB1*^[12]等;与美沙酮作用靶点相关基因,如 Crettol 等^[13]认为 *OPRM1* 基因多态性和美沙酮维持治疗的剂量和疗效反应有关。但此类研究多集中于国外且差异性较大,还没有统一的结论。本研究着眼于 *ARRB2* 基因多态性与美沙酮治疗反应的关系。*ARRB2* 是阿片信号转导通路中的负性调控蛋白,介导阿片受体的非磷酸化依赖的内吞途径^[14-15]。在 Raehal 和 Bohn^[16]的研究中,与野生型小鼠

表 2 不同治疗反应组 *ARRB2* 基因多态性位点基因型和等位基因频率分布

基因位点	治疗反应好人数(%)	治疗反应差人数(%)	χ^2 值	<i>P</i> 值	<i>OR</i> 值(95% <i>CI</i>)	调整 <i>P</i> 值	调整 <i>OR</i> 值(95% <i>CI</i>) ^a
基因型			0.486 2	0.784			
rs3786047							
GG	114(63.3)	328(66.0)			1.000	0.797	1.000
GA	59(32.8)	149(30.0)			1.139(0.785 ~ 1.644)		1.138(0.764 ~ 1.686)
AA	7(3.9)	20(4.0)			1.007(0.387 ~ 2.341)		1.301(0.354 ~ 2.301)
rs1045280			1.591 9	0.451			
TT	113(62.4)	329(66.3)			1.000	0.394	1.000
TC	62(34.3)	146(29.4)			1.236(0.855 ~ 1.779)		1.277(0.861 ~ 1.886)
CC	6(3.3)	21(4.2)			0.832(0.299 ~ 1.996)		0.809(0.283 ~ 2.022)
rs2036657			1.061 5	0.588			
AA	112(61.5)	319(65.0)			1.000	0.619	1.000
AG	63(34.6)	150(30.5)			1.196(0.828 ~ 1.719)		1.301(0.526 ~ 3.549)
GG	7(3.8)	22(4.5)			0.906(0.350 ~ 2.081)		1.082(0.450 ~ 2.887)
等位基因			0.195 5	0.658			
rs3786047							
G	287(79.7)	805(81.0)			1.000	0.723	1.000
A	73(20.3)	189(19.0)			1.083(0.798 ~ 1.460)		1.058(0.773 ~ 1.436)
rs1045280			0.288 0	0.592			
T	288(79.6)	804(81.0)			1.000	0.602	1.000
C	74(20.4)	188(19.0)			1.099(0.810 ~ 1.479)		1.085(0.795 ~ 1.471)
rs2036657			0.241 7	0.623			
A	287(78.8)	788(80.2)			1.000	0.582	1.000
G	77(21.2)	194(19.8)			1.090(0.807 ~ 1.461)		1.089(0.801 ~ 1.470)

注: ^a调整两组年龄、参加美沙酮维持治疗次数、近半年吸毒方式

(Arrb2+/+)相比, *ARRB2* 敲除小鼠(Arrb2-/-)经多次吗啡处理后没有产生急性或慢性耐受反应。这表明 *ARRB2* 介导了阿片受体的脱敏, 促进了吗啡耐受的形成。*ARRB2* 基因可能通过 *ARRB2* 依赖的信号通路影响阿片奖赏效应, 从而影响美沙酮维持治疗效果。

本研究对湖南省汉族人群中美沙酮维持治疗者的 *ARRB2* 基因多态性进行分析发现, rs3786047、rs1045280、rs2036657 多态性位点的基因型频率和等位基因分布频率在治疗反应好组与治疗反应差组之间差异均无统计学意义。尚未发现 *ARRB2* 基因 SNP 位点 rs3786047、rs1045280、rs2036657 与治疗反应有关联关系。

这与在高加索人种的研究相反, 在 Oneda 等^[17] 对瑞士白种人美沙酮维持治疗者 *ARRB2* 基因的多态性与美沙酮治疗反应的研究中发现, rs3786047AA、rs1045280CC、rs2036657GG 在美沙酮维持治疗反应差组中的频率更高, 并且其携带者的尿检阴性持续时间更短。然而在其他人的成瘾性研究中, 如中国人群吸烟行为的研究, *ARRB2* 基因的多态性与吸烟行为之间也未发现关联关系^[18]。提示各种族人群遗传背景的差异可能与 *ARRB2* 基因的多态性与美沙酮治疗反应关联性的研究结果不一致, *ARRB2* 基因 SNP 对中国人群的成瘾相关行为可能无影响。

本研究存在不足。人群中 *ARRB2* 基因的杂合程度低 (<25%), 样本量不足以解释 *ARRB2* 基因和美沙酮维持治疗反应的关系, 在进一步的研究中需要纳入更多的研究对象; 并且个体美沙酮治疗反应的变异较大, 其除了与基因有关, 还与环境、心理行为等因素有关, 单一基因的分析可能不足以反映出这种差异。因此进行基因与基因、基因与环境之间的相互作用来解释治疗反应的差异可能是一种趋势。

利益冲突 无

参 考 文 献

[1] Effective medical treatment of opiate addiction. National Consensus Development Panel on Effective Medical Treatment of Opiate Addiction[J]. JAMA, 1998, 280(22): 1936-1943. DOI: 10.1001/jama.280.22.1936.

[2] Kuehn BM. Methadone treatment marks 40 years[J]. JAMA, 2005, 294(8): 887-889. DOI: 10.1001/jama.294.8.887.

[3] Wang L. Overview of the HIV/AIDS epidemic, scientific research and government responses in China[J]. AIDS, 2007, 21 Suppl 8: S3-7. DOI: 10.1097/01.aids.0000304690.24390.c2.

[4] Sullivan SG, Wu Z, Detels R. Time to first treatment interruption in the Chinese methadone maintenance treatment programme[J]. Drug Alcohol Depend, 2013, 133(2): 427-432. DOI: 10.1016/j.

drugaldep.2013.06.021.

[5] Wang SC, Ho IK, Tsou HH, et al. Functional genetic polymorphisms in CYP2C19 gene in relation to cardiac side effects and treatment dose in a methadone maintenance cohort[J]. OMICS, 2013, 17(10): 519-526. DOI: 10.1089/omi.2012.0068.

[6] Levran O, Peles E, Hamon S, et al. CYP2B6 SNPs are associated with methadone dose required for effective treatment of opioid addiction[J]. Addict Biol, 2013, 18(4): 709-716. DOI: 10.1111/j.1369-1600.2011.00349.x.

[7] Tian JN, Ho IK, Tsou HH, et al. UGT2B7 genetic polymorphisms are associated with the withdrawal symptoms in methadone maintenance patients[J]. Pharmacogenomics, 2012, 13(8): 879-888. DOI: 10.2217/pgs.12.69.

[8] Clark CB, Hendricks PS, Lane PS, et al. Methadone maintenance treatment may improve completion rates and delay opioid relapse for opioid dependent individuals under community corrections supervision[J]. Addict Behav, 2014, 39(12): 1736-1740. DOI: 10.1016/j.addbeh.2014.07.011.

[9] Audet M, Bouvier M. Restructuring G-protein-coupled receptor activation[J]. Cell, 2012, 151(1): 14-23 DOI: 10.1016/j.cell.2012.09.003.

[10] Zuo Z. The role of opioid receptor internalization and beta-arrestins in the development of opioid tolerance[J]. Anesth Analg, 2005, 101(3): 728-734. DOI: 10.1213/01.ANE.0000160588.32007.AD.

[11] Crettol S, Deglon JJ, Besson J, et al. ABCB1 and cytochrome P450 genotypes and phenotypes: influence on methadone plasma levels and response to treatment[J]. Clin Pharmacol Ther, 2006, 80(6): 668-681.

[12] Dennis BB, Bawor M, Thabane L, et al. Impact of ABCB1 and CYP2B6 genetic polymorphisms on methadone metabolism, dose and treatment response in patients with opioid addiction: a systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e86114. DOI: 10.1371/journal.pone.0086114.

[13] Crettol S, Besson J, Croquette-Krokar M, et al. Association of dopamine and opioid receptor genetic polymorphisms with response to methadone maintenance treatment[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2008, 32(7): 1722-1727. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2008.07.009.

[14] Qiu Y, Law PY, Loh HH. Mu-opioid receptor desensitization: role of receptor phosphorylation, internalization, and representation[J]. J Biol Chem, 2003, 278(38): 36733-36739. DOI: 10.1074/jbc.M305857200.

[15] Zhang X, Wang F, Chen X, et al. Beta-arrestin 1 and beta-arrestin 2 are differentially required for phosphorylation-dependent and-independent internalization of delta-opioid receptors[J]. J Neurochem, 2005, 95(1): 169-178. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2005.03352.x.

[16] Raehal KM, Bohn LM. The role of beta-arrestin 2 in the severity of antinociceptive tolerance and physical dependence induced by different opioid pain therapeutics[J]. Neuropharmacology, 2011, 60(1): 58-65. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2010.08.003.

[17] Oneda B, Crettol S, Bochud M, et al. Beta-arrestin 2 influences the response to methadone in opioid-dependent patients[J]. Pharmacogenomics J, 2011, 11(4): 258-266. DOI: 10.1038/tpj.2010.37.

[18] Fang J, Wang X, He B. Association between common genetic variants in the opioid pathway and smoking behaviors in Chinese men[J]. Behav Brain Funct, 2014, 10: 2. DOI: 10.1186/1744-9081-10-2.

(收稿日期: 2015-12-29)

(本文编辑: 斗智)