

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.07.008

SLC6A4 基因多态性与海洛因依赖的关联性研究 *

杨东花¹ 马占兵¹ 彭 亮¹ 钟慧军^{1,2} 党 洁^{1,2Δ}

(1 宁夏医科大学基础医学院 银川 宁夏 750004; 2 宁夏回族自治区生育力保持教育部重点实验室 宁夏 银川 750004)

摘要 目的:探讨 5-羟色胺转运体基因(solute carrier family 6 member 4, SLC6A4)基因 4 个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点与海洛因依赖之间的关系。**方法:**严格按照诊断标准,选取无亲缘关系的海洛因依赖个体 397 例(病例组)及健康对照个体 402 例(对照组)提取基因组 DNA,采用 SNaPshot SNP 分型技术对 SLC6A4 基因 4 个 SNP 位点(rs1042173, rs3813034, rs6354, rs7224199)进行基因分型,比较病例-对照组间各位点等位基因、基因型频率的差异。**结果:**病例组和对照组 SLC6A4 基因 rs1042173 和 rs3813034 位点的基因型和等位基因频率比较存在显著性差异 ($P<0.05$), rs1042173 的 C 等位基因 ($P=0.031$, $OR=1.317$, 95%CI=1.026-1.691)及 rs3813034 的 C 等位基因 ($P=0.013$, $OR=1.375$, 95%CI=1.069-1.768)是海洛因依赖的危险因素。病例组 TCC 单倍型(rs7224199、rs3813034 和 rs1042173)的比例较对照组显著增高($P<0.05$)。**结论:**SLC6A4 基因 rs1042173 和 rs3813034 多态性可能与海洛因成瘾有关,携带有 rs1042173 的 C 等位基因和 rs3813034 的 C 等位基因的个体及携带 TCC 单倍型的个体可能更容易对海洛因产生依赖。

关键词:5-HT 转运体基因;5-羟色胺转运体;海洛因依赖;多态性**中图分类号:**R394.6;R395.6;R749.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)07-1241-05

Association between SLC6A4 Gene Polymorphism and Heroin Dependence*

YANG Dong-hua¹, MA Zhan-bing¹, PENG Liang¹, ZHONG Hui-jun^{1,2}, DANG Jie^{1,2Δ}

(1 Department of Medical Genetics and Cell Biology, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia, 750004, China;

2 Key laboratory of Fertility Preservation and Maintenance of Ministry of Education, Yinchuan, Ningxia, 750004, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the association between 4 single nucleotide polymorphism (SNP) sites and heroin dependence of solute carrier family 6 member 4 (SLC6A4) gene. **Methods:** According to the diagnostic criteria, genomic DNA was isolated from 397 unrelated heroin dependent individuals (case group) and 402 healthy unrelated individuals (control group). Polymorphism of rs1042173, rs3813034, rs6354, rs7224199 were genotyped by SNaPshot SNP technique to compare the allele and genotype frequencies between the case-control group. **Results:** There were significant differences in both allele and genotype frequencies of rs1042173 and rs3813034 between the case and control group ($P<0.05$). The C allele of rs1042173 ($P=0.031$, $OR=1.317$, 95% CI =1.026-1.691) and the C allele of rs3813034 ($P=0.013$, $OR=1.375$, 95% CI =1.069-1.768) were risk factors for heroin dependence. Moreover, we found the frequency of TCC (rs7224199, rs3813034, rs1042173) haplotype was significantly higher in heroin dependence than those in the controls. **Conclusion:** SLC6A4 gene rs1042173 and rs3813034 polymorphisms may be related to heroin addiction. Individuals carrying the C allele of rs1042173 and the C allele of rs3813034 and the carrier with haplotype TCC may be susceptible to heroin dependence.

Key words: SLC6A4; 5-HTT; Heroin dependence; Polymorphism**Chinese Library Classification(CLC):** R394.6; R395.6; R749.6 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2019)07-1241-05

前言

海洛因依赖是一种以反复发作的强迫性觅药、戒断综合征和复发为主要特征的慢性复发性脑病,患者往往对药物出现严重的精神和身体依赖性。目前,海洛因依赖治疗的人数约为 96 万,其复发率接近 100%^[1,2]。海洛因依赖病因复杂,遗传、心理以及环境等多种因素均可以影响其形成和发展,家系、双生子等研究表明海洛因依赖的遗传度高达 54%^[3-5]。作为重要的单胺

类抑制性神经递质,5-羟色胺(serotonin, 5-HT)系统的活化与神经递质的释放可以影响阿片类药物神经兴奋性传导过程,其对脑内涉及动机奖赏环路的调节使得 5-HT 成为潜在的影响药物成瘾的神经机制^[6,7]。

5-羟色胺转运体 (5-hydroxytryptamine transporter, 5-HTT) 是一种位于突触前膜与 5-HT 有高度亲和力的跨膜转运蛋白。5-HTT 能够再摄取细胞间隙内的 5-HT,通过调节 5-HT 的含量进而影响神经信号的转导^[8]。研究表明 5-HTT 编码基因

* 基金项目:宁夏回族自治区大学生创新创业项目(NXCX2018120);国家自然科学基金项目(31460288)

作者简介:杨东花(1998-),本科,研究方向:基础医学,电话:18309690228, E-mail: 2316551574@qq.com

Δ 通讯作者:党洁,博士,硕士生导师,副教授,主要研究方向:多基因病致病基因的鉴定及功能分析,

电话:0951-4086527, E-mail: djJune1978@163.com

(收稿日期:2018-12-13 接受日期:2019-01-06)

SLC6A4(solute carrier family 6 member 4,SLC6A4)参与了药物成瘾的发生发展,其基因多态性与酒精、可卡因、海洛因及苯丙胺依赖密切相关^[9,10],但有关 SLC6A4 基因多态性与中国人群药物成瘾间的关联研究较少。

为进一步证实 SLC6A4 基因多态性与海洛因依赖之间的关系,本研究以男性海洛因依赖患者和正常健康男性人群为研究对象,对 SLC6A4 基因 4 个 SNPs 位点进行基因分型,以期明确 SLC6A4 与海洛因依赖的关联性,为海洛因依赖易感人群筛选及药物靶向治疗提供理论依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

病例组为 2012 年 3 月至 2017 年 7 月在西安市精神卫生中心接受美沙酮维持治疗 (methadone maintenance treatments, MMT) 的 396 名汉族男性海洛因依赖患者 (平均年龄 47.03 ± 5.95 岁)。所有受试者符合《美国精神障碍诊断和统计手册》第 4

版 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-4, DSM-IV) 阿片类依赖性诊断标准,吗啡尿检阳性,无其他精神疾病。年龄小于 18 岁;有酒精、香烟、安非他明、巴比妥酸盐、苯二氮卓类或大麻依赖病史;正在服用其他可能影响中枢神经系统的处方药;有癫痫发作史、血液系统疾病或严重的肝脏或肾脏损害史等情况的受试者均被排除。

对照组为在西安交通大学第一附属医院体检中心接受健康检查的 401 名健康汉族男性(平均年龄 46.41 ± 9.59 岁),无海洛因等非法成瘾物质使用史,无神经、精神疾病及其他内科疾病。根据患者自述,祖居三代均为北方汉族。本研究通过西安交通大学医学部伦理委员会批准,所有受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 SNP 选择 (1)通过 Haploview 4.2 软件对 SLC6A4 基因标签 SNPs 进行筛选, $r^2 \geq 0.8$; (2)最小等位基因频率(MAF)大于 0.05; (3)基于以往国内外相关文献报道有关联的 SNP。共有 5 个 SNPs 纳入到本研究中,各位点详细信息见表 1。

表 1 SLC6A4 基因 5 个 SNPs 相关信息

Table 1 The information and location of SNPs in SCL6A4

Variable	Chr Pos	Location	Alleles	MAF
rs1042173	30197993	3'UTR	C/A	0.214
rs3813034	30197786	3'UTR	C/A	0.214
rs6354	30222880	5'UTR	T/G	0.118
rs7224199	30196708	3'UTR	T/G	0.212

1.2.2 基因分型 所有受试者 EDTA 抗凝管收集 5 mL 外周血,利用 EZNA TM Blood DNA Midi 试剂盒(Omega Bio-Tek, Norcross,GA,USA) 从血液白细胞中提取基因组 DNA。使用 SNaPshotSNP 分型技术对 SLC6A4 基因 4 个 SNP 进行基因分型。

所有需要分型的 DNA 样本都稀释到 5 ng/ μ L,使用 1U 的 HotStarTaq 聚合酶(Qiagen Inc.,USA)扩增目标 SNP 所在片段(总反应体积 5 μ L,PCR 反应条件:94 $^{\circ}$ C 15 分钟;94 $^{\circ}$ C 20 秒,56 $^{\circ}$ C 30 秒,72 $^{\circ}$ C 1 分钟,共 45 个循环;最终 72 $^{\circ}$ C 3 分钟)。PCR 扩增后,碱性磷酸酶处理去除剩余的 dNTP。之后,进行针对 SNP 的单碱基延伸反应(反应体系:0.755 μ L 水、0.2 μ L 10X iPLEX 缓冲液、0.2 μ L 终止混合物、0.041 μ L iPLEX 酶(Sequenom),0.804 μ L 10 μ M 的延伸引物;反应条件:94 $^{\circ}$ C 30 秒;94 $^{\circ}$ C 5 秒,52 $^{\circ}$ C 5 秒,80 $^{\circ}$ C 5 秒 5 个循环,共 40 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 3 分钟)。在终止反应物中加入 6 mg 阳离子交换树脂(Sequenom)脱盐,使用 MassARRAY Nanodispenser (Sequenom)将最终的分型产物点样到一块 384 孔的 spectroCHIP (Sequenom)上,并用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF)进行分析。最终结果由 MassARRAY RT 软件系统(版本号 3.0.0.4)实时读取,并由 MassARRAY Typer 软件系统(版本号 3.4)完成基因分型分析。为保证分型正确性,随机选取 5% 受试者(54 名受试者)进行两次基因分型,重复率 100%。

1.3 统计学分析

使用 SPSS 20.0 软件(SPSS Inc.,Chicago,IL,USA)进行统计学分析。对样本代表性进行 Hardy-Weinberg 平衡检验,基因

型分布以及等位基因频率采用 Pearson 卡方检验。所有统计过程均用双侧检验, $P < 0.05$ 表明差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 基因型分析

SLC6A4 基因 4 个 SNPs 的等位基因及基因型频率均符合 Hardy-Wenber 平衡,差异无显著性意义($P > 0.05$)。病例组和对 照组 4 个多态性位点基因型和等位基因频率分布及统计分析结果见表 2。结果显示:SLC6A4 基因 rs1042173 和 rs3813034 位点的基因型和等位基因频率在海洛因依赖患者与健康对照间存在显著性差异($P < 0.05$)。病例组 rs1042173 的 C 等位基因频率($P = 0.031$,OR=1.317,95%CI=1.026-1.691)及 rs3813034 的 C 等位基因频率($P = 0.013$,OR=1.375,95%CI=1.069-1.768)均显著高于对照组。rs7224199 TT 基因型在海洛因依赖患者中显著增高 ($P < 0.05$),T 等位基因频率在病例组和对 照组间无显著性差异($P > 0.05$)。rs6354 位点基因型和等位基因频率在病例组与对照间无明显差异 ($P > 0.05$)。以上结果提示 SLC6A4 基因 rs1042173 和 rs3813034 位点可能与海洛因依赖有关,携带有 rs1042173 多态性位点 C 等位基因和 rs3813034 C 等位基因的人可能对海洛因更容易产生依赖。

2.2 单倍型分析

对 SLC6A4 基因 4 个 SNPs 位点进行连锁不平衡分析(linkage disequilibrium,LD) 的结果显示:rs7224199、rs3813034 和 rs1042173 位点(block 1)处于强连锁不平衡(图 1),海洛因依

赖组 和对照组间构成的 T-C-C 单倍型 ($P=0.043$, $OR=1.771$, $95\%CI=0.600-0.990$) 存在显著性差异 ($P>0.05$, 表 3)。
294, $95\% CI=1.008-1.660$) 和 G-A-A 单倍型 ($P=0.041$, $OR=0.771$, $95\%CI=0.600-0.990$) 存在显著性差异 ($P>0.05$, 表 3)。

表 2 海洛因依赖及正常对照组 SLC6A4 基因 5 个 SNPs 基因型及等位基因的分布

Table 2 Distribution of the genotypic and allelic frequencies of 5 SNPs of SLC6A4 gene in the heroin dependence and controls

Variable	Heroin dependence (n=396)		Controls (n=401)		χ^2	P	OR, 95% CI
	No.	%	No.	%			
rs1042173						0.005	
CC	268	67.7	253	63.1	8.466		
CA	120	30.3	124	30.9			
AA	8	2.0	24	6			
C allele	656	82.8	630	78.6	4.671	0.031	1.317, 1.026-1.691
A allele	136	17.2	172	21.4			
rs3813034							
CC	272	68.7	252	62.8	9.068	0.011	
CA	116	29.3	125	31.2			
AA	8	2.0	24	6.0			
C allele	660	83.3	629	78.4	6.195	0.013	1.375, 1.069-1.768
A allele	132	16.7	173	21.6			
rs6354							
TT	306	77.3	310	77.3	0.447	0.800	
GT	84	21.2	87	21.7			
GG	6	1.5	4	1.0			
T allele	696	87.9	707	88.2	0.029	0.865	0.974, 0.720-1.318
G allele	96	12.1	95	11.8			
rs7224199							
TT	266	67.2	255	63.6	8.201	0.017	
GT	122	30.8	122	30.4			
GG	8	2.0	24	6.0			
T allele	654	82.6	632	78.8	3.638	0.056	1.275, 0.993-1.636
G allele	138	17.4	170	21.2			

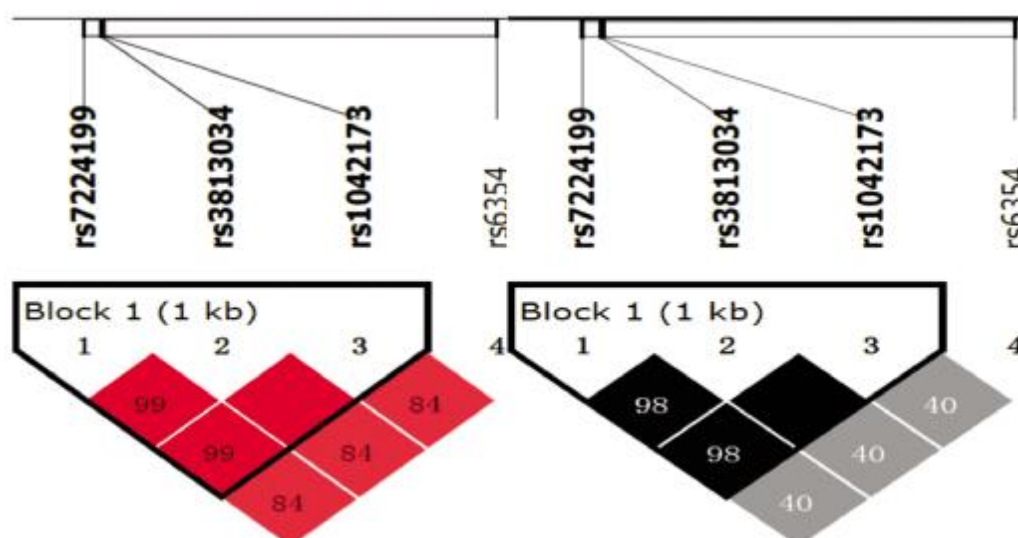
图 1 SLC6A4 基因 5 个 SNP 位点连锁不平衡分析 (A. D' 值 B. r^2 值)

Fig.1 Linkage disequilibrium (LD) plot of 5 SLC6A4 SNPs in healthy controls

(A. Values in squares are the pair-wise calculation of D' . B. Values in squares are the pair-wise calculation of r^2 .)

表 3 SLC6A4 单倍型频率与海洛因依赖风险的关系

Table 3 The frequencies of SLC6A4 haplotypes in block 1 and their association with heroin dependence

Haplotype	Cases(n,%)	Controls(n,%)	χ^2	P	OR	95%CI
TCC	654(82.58)	630(78.55)	4.115	0.043	1.294	1.008-1.660
GAA	136(17.17)	170(21.20)	4.162	0.041	0.771	0.600-0.990

3 讨论

海洛因等阿片类药物可部分阻断多巴胺再摄取的通路使神经元内多巴胺相对增多而产生“奖赏效应”,而 5-HT 系统则可以通过调节多巴胺转运参与大脑奖赏系统的调控^[11,12]。异常的 5-HT 系统表达往往与冲动性行为、行为抑制和抑郁等行为密切相关,而这些通常是海洛因依赖患者的常见症状^[13]。研究显示海洛因作用机体首先激活 5-HT、谷氨酸和氨基丁酸系统,最终作用于多巴胺系统,从而产生躯体和神经依赖。因此,5-HT 系统在海洛因的发生机制中至关重要^[14]。迄今为止,已有许多病例-对照研究对 5-HT 系统不同基因多态性在海洛因或其他药物依赖中的相关性进行了研究,而作为编码 5-HT 转运蛋白的 SLC6A4 基因也成为研究药物成瘾的热点之一。SLC6A4 基因位于染色体 17q11.1-q12,其编码的 5-HTT 位于突触前膜,能够将释放入突触间隙的 5-HT 重吸收入突触前膜,且调控其在突触间隙的数量及维持作用的时间^[15]。

以往有关 SLC6A4 基因多态性与药物成瘾之间的关联研究主要集中在位于 5' 非翻译区(5'UTR)的两个可变量目重复多态性位点(variable number of tandem repeats, VNTR)。其一为位于启动子区的 5-羟色胺转运体基因连锁多态区(5-hydroxytryptamine transporter-linked promotor region, 5-HTTLPR)一个 43bp 插入(L 型等位基因)/缺失(S 型等位基因)多态位点;另一个为位于第二内含子的 17bp 重复多态位点 STin2(Serotonin Transporter Intron 2)^[16]。研究显示这两个多态性位点的变异可能通过影响 SLC6A4 的表达水平导致 5-HT 系统功能改变,进而导致酒精、可卡因和阿片类药物依赖的发生^[8]。5-HTTLPR 位点不同基因型的频率分布与 SLC6A4 mRNA 水平在大脑中缝背核、中缝及黑质中的浓度相关,研究显示携带有 L/L 基因型的个体其 SLC6A4 mRNA 水平显著高于 L/S 和 S/S 基因型个体^[17]。而 STin2 多态性似乎与海洛因依赖关联性不大^[18],但有文献报道 STin2 基因多态性与烟草滥用和尼古丁依赖存在一定关联性^[19]。

在本项病例-对照研究中,我们对 SLC6A4 基因 4 个 SNP 位点在 397 位海洛因依赖患者和 401 位健康对照间进行了分型分析,结果显示 rs1042173 和 rs3813034 位点的基因型和等位基因频率在病例与对照间存在显著性差异,提示携带有 rs1042173 C 等位基因和 rs3813034 C 等位基因的人可能对海洛因更容易产生依赖。同时,我们还发现携带有 T-C-C 单倍型(rs7224199,rs3813034,rs1042173)的个体更容易罹患海洛因依赖,而 G-A-A 单倍型则成为海洛因依赖的保护性因素。

作为 3' 非编码区(3'UTR)SNP,rs1042173 和 rs3813034 的 C 等位基因成为海洛因依赖的风险因素可能是由于该变异影响了 microRNA 的结合,从而影响 SLC6A4 的表达水平并因此干扰 5-HTT 的活性。根据生物信息学分析,rs1042173 C 等位基

因可能影响了 hsa-miR-590-3p 保守结合位点的第一个核苷酸,因此导致后者与 SLC6A4 靶序列间结合能力降低,使得 5-HTT 蛋白水平增加^[17]。hsa-miR-590-3p 曾被报道与阿尔茨海默病(AD)和自闭症谱系障碍(ASD)密切相关,其可能通过下调核不均一核糖核蛋白 A1 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, hnRNP-A1)的表达在神经退行性疾病中发挥作用^[20]。此外,rs3813034 位于 SLC6A4 基因 3'UTR 远端,研究显示该位点的变异可能影响了 miR16 的结合,从而导致 5-HTT 功能异常^[21]。一般而言,5-HTT 的表达增高,会增强对突触间隙 5-HT 重吸收,从而使得可供传递的 5-HT 水平降低,进而代偿性的触发突触前神经元产生更多 5-HT 或增加突触后神经元 5-HT 受体的数量^[22]。

Jennings 等^[23]的研究表明 SLC6A4 表达增加会伴随 5-HT2A 受体功能增强,而 5-HT2A 受体因其在神经细胞的生长与分化及在多巴系统的调控过程中扮演的重要作用已为成治疗毒品成瘾药物作用的靶点^[24,25]。突触前 5-HT2A 受体主要定位于腹侧被盖区和伏隔核内多巴胺能神经元,被激动后可使 K⁺ 电导降低,神经元兴奋。同时,5-HT2A 受体也可以调节乙酰胆碱、多巴胺、兴奋性氨基酸等递质的释放参与到大脑的奖励系统中。国内外多项研究表明 5-HT2A 基因 rs6311、rs6313 多态性位点可以通过调节中脑边缘多巴胺系统 5-HT2 受体在脑部的表达含量,进而影响着奖赏、动机以及高的活动量效应^[26,27]。rs3813014 与 rs1042173 位于同一单倍型区,因此前者也可能通过修饰 5-HTT mRNA 的二级结构而影响 5-HTT 的表达^[28]。据此,我们推测 rs1042173 和 rs3813034 的 C 等位基因可能通过促进 SCL6A4 基因表达活性而增强对突触间隙 5-HT 的重吸收,同时增强 5-HT2A 受体活性而提高个体对多巴胺的敏感性,从而导致个体对海洛因渴求程度的增强。

本研究尚存在很多不足。首先,海洛因依赖是一类在病因学、临床症状及治疗反应等多方面存在高度异质性的疾病^[29],其表型差异往往与遗传高度可变性相关。因此,仅建立某个系统、某个基因的个别多态性位点与海洛因依赖之间的关联性研究缺乏全面性,将来需进一步扩大研究范围全面研究二者关联性。其次,海洛因依赖的形成与环境风险因素及种族差异密切相关^[30],尚需在不同种族间进行验证性研究以明确 SLC6A4 与海洛因依赖之间的关联性,同时分析其与环境风险因素的交互作用。最后,本研究样本量较小,可能会增加结果误差,未来尚需进一步扩大样本深入研究。

从基因多态性的角度去寻找海洛因依赖易感性是目前进行易感基因筛查的常用方法,本研究为 SLC6A4 基因在海洛因依赖中的分子机制提供了理论支持,但 SCL6A4 基因多态性与海洛因究竟有无相关性仍需在不同地区及人群中进一步研究验证,同时也需进一步明确二者之间的作用机制。

参 考 文 献(References)

- [1] Frascella J, Potenza MN, Brown LL, et al. Shared brain vulnerabilities open the way for nonsubstance addictions: carving addiction at a new joint?[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1187(2): 294-315
- [2] Vereczkei A, Sasvari-Szekely M, Barta C. The role of genetic variants of the dopaminergic system in heroin dependence [J]. *Neuropsychopharmacol Hung*, 2009, 11(2): 95-101
- [3] Cicero TJ, Ellis MS, Surratt HL, et al. The changing face of heroin use in the United States: a retrospective analysis of the past 50 years[J]. *JAMA Psychiatry*, 2014, 71(7): 821-826
- [4] Jones CM. Heroin use and heroin use risk behaviors among nonmedical users of prescription opioid pain relievers - United States, 2002-2004 and 2008-2010[J]. *Drug Alcohol Depend*, 2013, 132(1-2): 95-100
- [5] Kennedy AP, Epstein DH, Phillips KA, et al. Sex differences in cocaine/heroin users: drug-use triggers and craving in daily life[J]. *Drug Alcohol Depend*, 2013, 132(0): 29-37
- [6] Maria B, Vassiliki AB, Petros P, et al. A review of genetic alterations in the serotonin pathway and their correlation with psychotic diseases and response to atypical antipsychotics [J]. *Schizophrenia Research*, 2016, 170(1): 18-29
- [7] Wang J, Li MD. Common and unique biological pathways associated with smoking initiation/progression, nicotine dependence, and smoking cessation[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2010, 35(3): 702-719
- [8] Cao J, Hudziak JJ, Li D. Multi-cultural association of the serotonin transporter gene (SLC6A4) with substance use disorder[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38(9): 1737-1747
- [9] Gelernter J, Panhuysen C, Wilcox M, et al. Genomewide linkage scan for opioid dependence and related traits [J]. *Am J Hum Genet*, 2006, 78: 759-769
- [10] Glatt SJ, Su JA, Zhu SC, et al. Genome-wide linkage analysis of heroin dependence in Han Chinese: results from wave one of a multi-stage study [J]. *Drug and Alcohol Dependence*, 2008, 98 (1-2): 30-34
- [11] Fischer AG, Ullsperger M. An update on the role of serotonin and its interplay with dopamine for reward [J]. *Front Hum Neurosci*, 2017, 11: 484
- [12] Niladri B. Neurotransmitters in alcoholism: A review of neurobiological and genetic studies[J]. *Indian J Hum Genet*, 2014, 20(1): 20-31
- [13] Li Y, Zhong W, Wang D, et al. Serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus encode reward signals[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10503
- [14] Yin F, Ji Y, Zhang J, et al. Polymorphisms in the 5-hydroxytryptamine receptor 3B gene are associated with heroin dependence in the Chinese Han population [J]. *Neurosci Lett*, 2016, 635 (2): 123-129
- [15] Otten R, van der Zwaluw CS, Engels RC, et al. Testing bidirectional relationships between alcohol use and depressive symptoms: what is the role of the serotonin transporter gene? [J]. *Alcohol*, 2018, 66: 69-75
- [16] Patriquin MA, Hamon SC, Harding MJ, et al. Genetic moderation of cocaine subjective effects by variation in the TPH1, TPH2, and SLC6A4 serotonin genes[J]. *Psychiatr Genet*, 2017, 27(5): 178-186
- [17] Lin PY, Wu YS. Association between serotonin transporter gene polymorphisms and heroin dependence: a meta-analytic study [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2016, 12(30): 3061-3067
- [18] Wang TY, Lee SY, Chung YL, et al. TPH1 and 5-HTTLPR genes specifically interact in opiate dependence but not in alcohol dependence[J]. *Eur Addict Res*, 2016, 22(4): 201-209
- [19] Pizzo de Castro, Márcia Regina, Maes, et al. SLC6A4 STin2 VNTR genetic polymorphism is associated with tobacco use disorder, but not with successful smoking cessation or smoking characteristics: a case control study[J]. *BMC Genetics*, 2014, 15(78): 78-81
- [20] Chiara Villa, Chiara Fenoglio, Milena De Riz, et al. Role of hnRNP-A1 and miR-590-3p in Neuronal Death: Genetics and Expression Analysis in Patients with Alzheimer Disease and Frontotemporal Lobar Degeneration[J]. *Rejuvenation Research*, 2011, 14(3): 275-281
- [21] Nonen S, Kato M, Takekita Y, et al. Polymorphism of rs3813034 in serotonin transporter gene SLC6A4 is associated with the selective serotonin and serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor response in depressive disorder: sequencing analysis of SLC6A4 [J]. *J Clin Psychopharmacol*, 2016, 36(1): 27-31
- [22] Eison AS, Mullins UL. Regulation of central 5-HT2A receptors: A review of in vivo studies[J]. *Behav Brain Res*, 1996, 73(1-2): 177-181
- [23] Jennings KA, Sheward WJ, Harmar AJ, et al. Evidence that genetic variation in 5-HT transporter expression is linked to changes in 5-HT2A receptor function [J]. *Neuropharmacology*, 2008, 54 (5): 776-783
- [24] Saiz PA, Garcia-Portilla MP, Florez G, et al. Differential role of serotonergic polymorphisms in alcohol and heroin dependence [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2009, 33(4): 695-700
- [25] Leonard LH, Kathryn A.C. Serotonin 5-HT2 Receptor Interactions with Dopamine Function: Implications for Therapeutics in Cocaine Use Disorder[J]. *Pharmacol Rev*, 2015, 67(1): 176-197
- [26] 党伟, 陈湘, 钟慧军, 等. 5-羟色胺受体基因多态性位点与海洛因依赖的关联性研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2013, 13 (30): 5900-5903
- [27] Cao J, Liu XT, Han SZ, et al. Association of the HTR2A gene with alcohol and heroin abuse. *Hum Genet*, 2014, 133(3): 357-365
- [28] Nonen S, Kato M, Takekita Y, et al. Polymorphism of rs3813034 in Serotonin Transporter Gene SLC6A4 Is Associated With the Selective Serotonin and Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitor Response in Depressive Disorder: Sequencing Analysis of SLC6A4[J]. *J Clin Psychopharmacol*, 2016, 36(1): 27-31
- [29] Montasser ME, Ziv-Gal A, Brown JP, et al. A potentially functional variant in the serotonin transporter gene is associated with premenopausal and perimenopausal hot flashes[J]. *Menopause*, 2015, 22 (1): 108-113
- [30] Andrew R, Enrique RP, Chunki F. Racial/Ethnic Differences in Prevalence Trends for Heroin use and Non-Medical use of Prescription Opioids Among Entrants to Opioid Treatment Programs, 2005-2016[J]. *Substance Use & Misuse*, 2018, 53(2): 290-300