

総説

物質依存における嗜癖と行動特性という表現型に着目して、 疾病の分子メカニズムを解明する

石黒浩毅

山梨大学大学院臨床遺伝学講座

要旨：物質依存症は、アルコールやニコチン、大麻、その他の違法性薬物に対する精神的・身体的依存が形成され、日常生活に深刻な支障を来す疾患である。その原因は、遺伝的および環境的要因に基づく複雑な分子メカニズムにある。また、依存症は快感や報酬感覚の強化、耐性形成、離脱症状、再発傾向など、複数の表現型を示す。本総説では、依存症形成に関わる神経伝達系として、主に報酬系であるドーパミンシステム、セロトニンシステム、GABA システム、グルタミン酸システム、エンドカンナビノイドシステムについての研究知見を論じる。これらのシステムは相互に作用し、依存性物質による快感強化や学習・記憶に関連する神経可塑性に影響を与えることで、依存症の進行を助長する。また、神経接着因子はシナプス形成や神経回路の安定に寄与し、依存性物質の長期的な影響に関与することが明らかになりつつある。依存症が複数の表現型から成り立つことを理解し、それぞれの分子メカニズムを解明することで、依存症の予防と個別化治療の発展に貢献することが期待される。

キーワード 物質依存, 行動特性, モノアミンシステム, エンドカンナビノイドシステム, 神経接着因子

物質依存（物質使用障害）は、大麻を含めた麻薬類や覚せい剤に加えて、アルコールやニコチンなどの物質に対して精神的ならびに身体的依存が形成され、精神疾患および身体疾患のリスクを増やすとともに、依存性物質の使用以外の日常生活を維持することに関心を失ったり蔑ろにしたりすることで家族内トラブルや社会的苦痛を引き起こすことがある深刻な疾病である。物質依存の原因は遺伝的（体質）要因および環境・心理的要因の複合、すなわち多因子疾患である。身近な物質であるアルコールやニコチン、あるいは非合法薬物の使用に対する精神的および身体的反応は遺伝要因で説明されるも

のでありさまざまである。依存形成後には、物質の使用中断による身体的な痛み、震え、発汗、吐き気、不安や抑うつ状態などの離脱症候群を呈する物質が多いため、物質使用が継続される。環境・心理的要因としてはストレスやトラウマ体験、うつ病などの気分症状（精神疾患自体も遺伝要因と環境要因による多因子疾患として説明される）が依存形成に影響する（図1）。

ロバート・クロンビンガーは包括的な人格理論に基づいて4つの気質次元（新奇求性 Novelty Seeking, 危害回避 Harm Avoidance, 報酬依存 Reward Dependence, 固執性 Persistence）と、3つの性格次元（自己志向性 Self-Directedness, 協調性 Cooperativeness, 自己超越 Self-Transcendence）から構成される TCI (Temperament and Character Inventory) を開発し、TCI を用

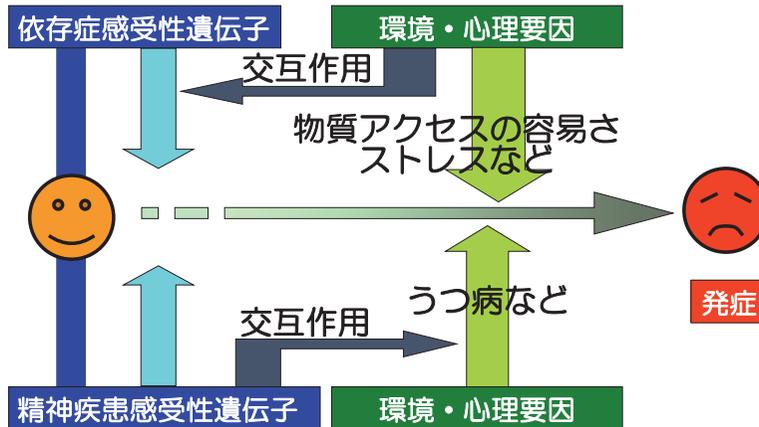


図1. 依存症発症メカニズム

物質依存症も多因子疾患である。疾病概念はすなわち、依存症の疾患感受性遺伝子や依存症との合併が多い精神疾患の疾患感受性遺伝子を遺伝要因とし、環境要因が時に遺伝要因と相互作用して発症リスクを上げている。たとえばアルコール依存にはうつ病や摂食障害、覚せい剤など違法性薬物依存には双極性障害などが合併しやすいことが知られている。

いた依存症を罹患しやすい人格傾向が論じられてきた。依存症には特に Novelty Seeking の強さと Harm Avoidance の弱さが嗜癖形成に関与しており、Self-Directedness や Cooperativeness の低さによる孤独・孤立性も依存症からの回復を遅らせる因子として考えられている。依存研究におけるモデル動物解析では嗜癖形成の観察の他、ヒトにて TCI に認められる行動特性（表現型）を測定するための行動解析バッテリーが用いられている（図2）。

依存症の分子メカニズムは単純ではない。物質依存症のメカニズムにおいては、ドーパミン、セロトニン、GABA、グルタミン酸などの神経システムが密接に相互作用し、依存性物質への反応を調整している。依存性物質はまず1次的にそれぞれ異なる脳内神経ネットワークに作用し、その後、脳内報酬系を活性化させる。長期的に物質使用が継続されることで、依存（物質影響下での脳神経ネットワーク）が形成される。報酬系とは主に、腹側被蓋野（Ventral Tegmental Area: VTA）、線条体（Striatum）、前頭前皮質（Prefrontal Cortex）といった脳領

域であり¹⁾、報酬系におけるドーパミンシステムが物質摂取に対して過剰な快感を生じさせることで依存形成における中心的な役割を果たすが、併行して、セロトニンシステムは感情や気分、睡眠、痛みなど多くの生理的・心理的機能に関与し、依存症の発症や進行に関与する。セロトニンとドーパミンシステムは互いにシナプスにてモノアミン放出を抑制する逆相互作用を持つことが知られている²⁾。

モノアミンシステム以外では、GABA ならびにグルタミン酸神経システムと依存との関連は深い（図3）。GABA（ガンマアミノ酪酸）神経システムはベンゾジアゼピン系薬剤が作用することでも知られる。GABA は抑制的神経伝達物質の1つであり、VTA においてドーパミンシステムを調整することで依存形成にも関与する。一方、グルタミン酸は中枢神経系における興奮性神経伝達物質であり、報酬系ニューロンも活性化している。依存性物質の連続摂取により、特に側坐核や前頭前皮質におけるグルタミン酸システムが活性化し依存形成に寄与する。グルタミン酸システムは記憶・学習に働いてお



動物モデルの解析装置

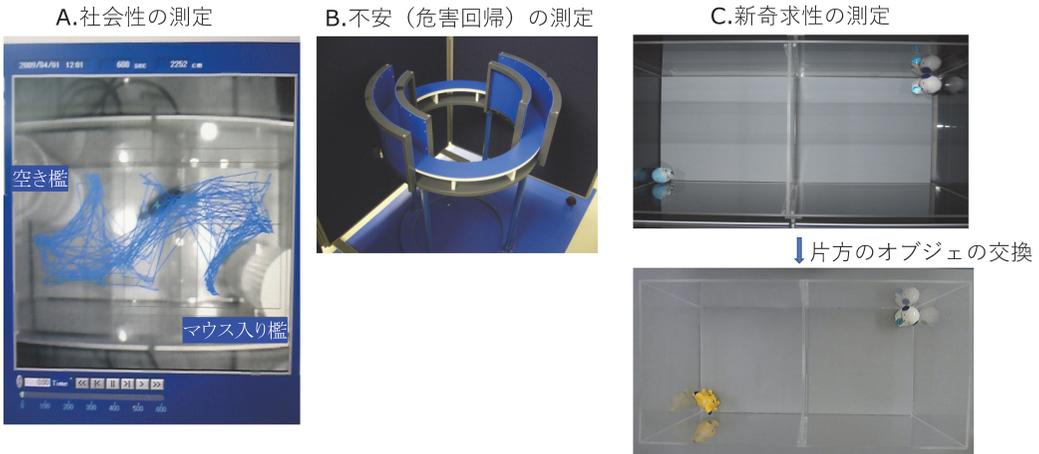


図2. モデルマウスを用いた、依存症の特性・表現型の解析装置

近交系マウスや遺伝子改変マウスを用い、依存性物質影響下での行動特性、さらに治療薬候補薬投与による行動変化、など行動解析する。目的により解析装置を組み合わせる。

A. 対角線上の檻の中には1つに同姓同系統のマウスを入れている。中央には窓のある隔壁があり、マウスには20分間、何も入っていない檻または仲間の入った檻を自由に探索させ、後者への滞在時間の長さにて社会性を測定する。

B. 高架式ゼロ迷路では壁のある通路（closed section）とない通路があり（open section）、5分間で closed section の滞在時間がより長いことが不安の強さとして測定される。

C. A に用いた装置にて小さいオブジェを対角に配置し、マウスに5分間探索させる。1つのオブジェを交換してただちにマウスに再度5分間探索させたときの新しく配置されたオブジェの探索時間の長さをもって新奇性の強さを測定する。

り、依存行動が強化される要因ともなる³⁻⁵⁾。

エンドカンナビノイドシステム (Endocannabinoid System: ECS) は、脳内に存在するエンドカンナビノイドとその生合成および代謝に関わる酵素、2つの受容体（カンナビノイド CB1 受容体とカンナビノイド CB2 受容体）から成る神経伝達システムである。脳内報酬系のさまざまな神経システムへ関与し、感情、動機づけ、学習、記憶、食欲、痛みなどの生理的・心理的機能を持つ。以前よりカンナビノイド CB1 受容体はアルコール摂取とその強化 (reinforcement) に働くことが報告されてきた⁶⁻⁸⁾。外因性カンナビノイドとしてマリファナ（大麻）の精神作動性物質の主成分で

ある THC (Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール, delta-9-tetrahydrocannabinol) が知られている。エンドカンナビノイドおよび外因性カンナビノイドはカンナビノイド受容体を介して報酬系にてドーパミンの放出を促進して依存形成に関与する。エンドカンナビノイドはさらに、特定のシナプス結合を弱める長期抑圧 (LTD) や強める長期増強 (LTP) といった脳の神経可塑性にも働く⁹⁾¹⁰⁾。そのため依存を含めた精神疾患におけるエンドカンナビノイドシステムの働きに注目が集まっている¹¹⁾。

これらの知見に基づき、依存症易罹患性に寄与する分子メカニズムの解明が試みられてきた。研究方法は大きく2つのアプローチがある。1

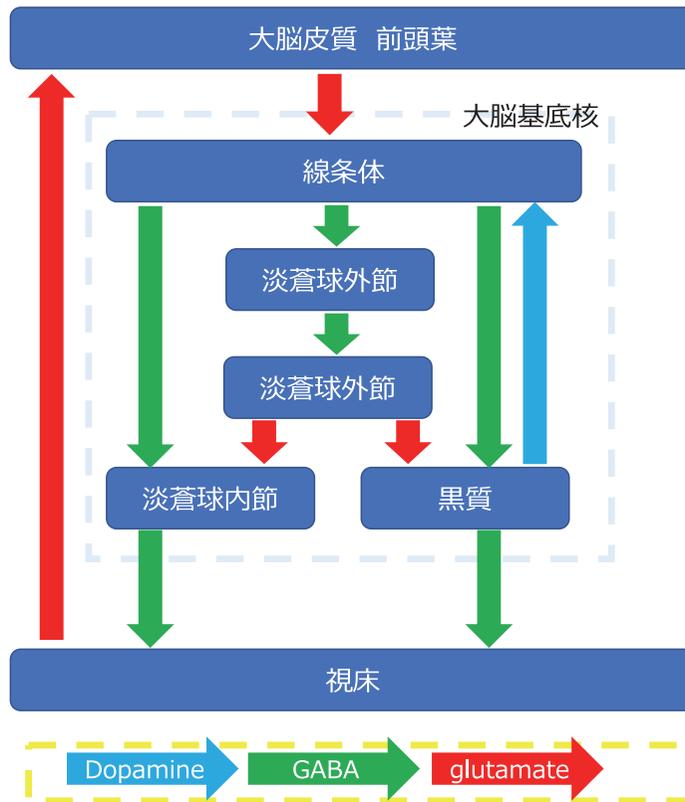


図3. 依存に関わる神経システム
 大脳皮質、大脳基底核、視床において、依存に関連の深いドーパミン、GABA およびグルタミン酸神経のシグナル伝達の関係性を示した。

つのアプローチは、報酬系に属するモノアミンシステムやその他の神経システムに属する候補遺伝子に関して、依存症の遺伝子関連解析を行うものである。もう1つのアプローチは、ゲノムワイド関連解析により物質依存に関連する分子を明らかにするものである。後者については後述するように、神経接着因子が関与する依存脳神経ネットワーク再構築という新たな疾病メカニズムの解明に一石を投じることが出来た。本稿では、我々が依存症解明に取り組み、これまでに明らかになっている依存症関連分子と表現型との関係性について総論することとする。

1. 疾病概念に基づく神経システムにおける分子についての遺伝子関連解析知見

1.1 ドーパミン D2 受容体 (*DRD2* 遺伝子)

ドーパミン受容体には5種類が存在し、D1ファミリー (D1, D5 受容体) と D2 ファミリー (D2, D3, D4 受容体) の2つに分類される。特に D2 ファミリーは報酬系や感情、認知機能に働いており、アルコール依存やヘロイン依存などいくつかの物質に対して *DRD2* 遺伝子と依存症易罹患性との関連がある程度認められている¹²⁻¹⁴⁾。*DRD2* 遺伝子多型が関与する依存症関連の表現型についてはいくつかの研究報告があるものの¹⁵⁾、未だ情報は少ない。

1.2 セロトニントランスポーター (SLC6A4 遺伝子)

セロトニントランスポーター (5-HTT) は、シナプス前終末においてセロトニン (5-HT) を細胞内に再び取り込みし、神経伝達を調整するタンパクである。5-HTT を規定する *SLC6A4* 遺伝子には、プロモーター領域における遺伝子/タンパク発現に関わる遺伝子多型が存在する。我々は日本人における喫煙者と非喫煙者についての遺伝子関連解析にて同遺伝子多型と喫煙とに関連を示した。メタアナリシスでは否定されたが、喫煙状況が被験者抽出や解析に影響を及ぼしている可能性が示唆されている¹⁶⁾。すなわち、物質依存の遺伝子関連解析では、“物質の使用環境；アプローチのしやすさ”といった環境要因が影響するため、物質依存の遺伝子解析には詳細な表現型解析が必要である。次にその1例となる我々の *SLC6A4* 遺伝子とアルコール依存症研究について概説する。

我々の日本人のアルコール依存症罹患者における遺伝子関連解析では、*SLC6A4* promoter 領域遺伝子多型と依存症罹患性に関連を認めなかったが、依存症患者の臨床特性を解析したところ、発症年齢や飲酒に関連した逮捕歴との相関が示唆された。逮捕歴との相関が示唆された点について、先行研究において同遺伝子多型が harm avoidance という人格特性と関連する知見が示されていることと矛盾はない。最近の Review では同じ遺伝子多型が「無防備な性行為、リスクのある性体験、複数の性的パートナーを持つ」などの性的リスク行動との相関を報告しているなど興味深い¹⁸⁾。

1.3 エンドカンナビノイドシステム

1.3.1 ジアシルグリセロールリパーゼアルファ (DAGLA 遺伝子)

DAGLA はエンドカンナビノイド 2-AG の合成酵素であり、*DAGLA* 遺伝子の Pro899Leu 多型とアルコール依存症との関連が示された。同時にマウス実験では、中脳における *Dagla* 遺伝子発現が慢性軽度ストレスやアルコール嗜好性

の獲得によって減少することが確認されている¹⁹⁾。この知見については日本人集団におけるものであり、他の人種・文化集団での追試が望まれる。

1.3.2 カンナビノイド CB1 受容体 (CNR1 遺伝子)

我々が CB2 受容体の脳内分布および神経細胞での発現を明らかとするまでは²⁰⁾、CB1 受容体が中枢神経系受容体、CB2 受容体は脾臓、扁桃、白血球など免疫系受容体と考えられてきた²¹⁾。中枢神経系受容体とされてきた CB1 受容体を規定する *CNR1* 遺伝子にはアミノ酸を変化させる遺伝子多型は存在しないが、翻訳されるアイソフォームの脳領域ごとの発現の違いに関わる遺伝子多型の組み合わせ (ハプロタイプ) を我々はヒト死後脳にて同定した。このハプロタイプがアルコール依存や物質依存に関わることが遺伝子関連解析にて示されたため²²⁾、依存脳形成における特定の脳部位における CB1 受容体の発現変化が依存症の発症を説明する可能性を示唆したものと考察している。

1.3.3 カンナビノイド CB2 受容体 (CNR2 遺伝子)

一方、末梢免疫系に関わるとされてきた CB2 受容体を規定する *CNR2* 遺伝子には連鎖不平衡の関係にある2つの遺伝子多型が存在し、我々の研究にてそれぞれ、アミノ酸が変化して G タンパク結合型受容体の機能を低下させる遺伝子多型、ヒト死後脳にて受容体発現量の減少に関与する遺伝子多型であることが明らかとなった²³⁾。これらの *CNR2* 遺伝子多型は統合失調症、うつ病、神経性無食欲症とともに、依存症にも関連することがいくつかの研究にて示唆されている²³⁻²⁷⁾。なぜこの1つの受容体が異なる表現型である複数の精神疾患に関連するのには興味深い知見であり、『遺伝子-環境相互作用 (GxE)』を仮説として新たな知見蓄積が進められている²⁸⁻³¹⁾。

以前より PTSD (心的外傷後ストレス障害) を含めたストレス障害やうつ病、神経性無食欲症、統合失調症は、アルコール依存症などの依

存症と合併リスクが高いことが示唆されている。CB2 受容体機能は互いの精神疾患の易罹患者性を説明する 1 分子と考えている。近年では精神疾患の疾病メカニズムには神経免疫反応の関与がクローズアップされており、CB2 受容体の神経免疫機能における作用が研究されている³¹⁻³³。たとえば、免疫細胞に作用する poly I:C (ポリイノシン・ポリシトシン, polyinosinic-polycytidylic acid) を用いて作成したうつ病モデルマウスは、マウス *Cnr2* 遺伝子のヘテロ接合型個体が野生型個体に比してより強い不安・抑うつを示し、その脳においては *Fkbp5* や *Nr3c1* 遺伝子、および *Il1β* (Interleukin-1 beta; インターロイキン 1β) の発現が変化していることが明らかとなった。インターロイキン 1β は、免疫系において重要な役割を果たすサイトカインである。NR3C1 はグルココルチコイド受容体 (GR)、FKBP5 は GR と相互作用してその親和性を低下させるタンパクであるため、これらの知見について、ストレスホルモンであるコルチゾールの調節において CB2 受容体が働いていると考えられる³⁴。さらにマイクログリアにおける CB2 受容体を選択的にノックアウトしたマウスでは、アルコール嗜好性に変化を認めることもわかった³⁵。これらの知見は、依存症への神経免疫の作用を示唆するものである。また、慢性軽度ストレス負荷下にて CB2 受容体アゴニスト (作動薬) が抗うつ薬であるフルボキサミンと同様の抗不安効果を持つことが示唆されており³⁴、CB2 受容体へのアゴニスト作用を持つ薬剤の不安抑うつ症状および依存症への治療効果について知見を収集する必要がある。アルコール依存症とうつ病との合併率の高さという臨床知見について、アルコール依存がうつ病を誘導するのか、うつ病患者がアルコール摂取を増やすのか、モデル動物の行動解析ならびにその表現型における分子メカニズムの解明にて明らかとなるものと期待している。

2. 網羅的ゲノム関連解析による物質依存に関わる分子と関連システム解析知見

2.1 神経接着因子 NrCAM (Neuronal Cell Adhesion Molecule; *NRCAM* 遺伝子)

多剤を乱用する重症物質依存症患者とその健常対照者を用いてマイクロアレイを用いた網羅的ゲノム解析にてヒト 7 番染色体に関連領域を Positional Cloning した。さらにモルヒネを投与したラット脳においては *Nrcam* タンパクの発現が増加する、*Nrcam* タンパクがマウス脳の中脳腹側被蓋野 (ventral tegmental area) と海馬などに分布し、ドーパミン神経上に存在する³⁶、という知見を統合して *NRCAM* 遺伝子を疾患感受性遺伝子として同定することができた。*NrCAM* は、神経細胞接着分子の一種で、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞接着分子であり、神経細胞間の接着や軸索の成長方向のシグナル伝達に関与し、神経系の発達や機能に重要な役割を果たす。依存性物質の連続摂取により神経ネットワークが再構築されるにあたり、神経接着因子がなんらかの作用を持つと考えられる。

遺伝子疾患関連解析と併行して、3 人種 (白人, 黒人, 日本人) のヒト死後脳にて mRNA 転写領域にある遺伝子多型における対立遺伝子間での発現比較により *NRCAM* 遺伝子の発現減少に共通して認められるハプロタイプを人種ごとに同定し、このハプロタイプがいずれの人種集団においても依存症に保護的に関連することを見出した³⁶。モデルマウスを用いた薬理行動解析では、*NRCAM* 遺伝子の発現が低い場合、アルコール、モルヒネ、コカイン、アンフェタミンなどの多剤依存に対する脆弱性の発現を抑制する保護作用を示す³⁶。すなわち各依存性物質が脳内で異なる神経・グリア細胞に結合していても、依存形成には *NrCAM* が作用する共通分子メカニズムがあると考えられる。興味深いことに、モルヒネの鎮痛作用には *NrCAM* は機能していない³⁷。

本研究は他の研究者により、*NRCAM* 遺伝

子多型とメタンフェタミン使用障害との関連解析が追試されて関連が追認されると同時に、*NRCAM* 遺伝子のいくつかの遺伝子多型と TCI などを用いた人格傾向との関連解析が行われたが、ハプロタイプとの関連を見ておらず明らかな知見は得られなかった³⁸⁾。我々は依存の分子メカニズムと関連する中間表現型を明らかにするために、*Nrcam* ノックアウトマウスを用いていくつかの行動特性および脳内の遺伝子発現プロファイリングを行ったところ、*Nrcam* ノックアウトマウスは、新奇求性や社会性、不安行動の低下などの表現型を持つことが明らかとなった³⁷⁾。すなわち依存症者にしばしば観察されるものと反対の人格特性であることと矛盾しない知見が得られている。

そこで NrCAM を阻害する薬剤が依存症の新規薬剤候補となると考えたが、現在、神経接着因子そのものを阻害する薬剤はない。そこで NrCAM 低発現が影響する神経ネットワークをマイクロアレイにて遺伝子発現プロファイリングし³⁷⁾³⁹⁾、どのような神経系分子が変化しているのかを解析した結果、NrCAM 低発現によりグルタミンナーゼ（グルタミンからグルタミン酸を生成するアミドヒドロラーゼ酵素）の発現が減少することを同定した。そこでグルタミンナーゼ阻害剤が依存への治療薬候補であると考えてモデルマウスへ投与したところ、少なくとも *Nrcam* ノックアウトマウスで見られる表現型に類似した変化、すなわちアルコール、モルヒネ、コカイン、アンフェタミンの報酬獲得および不安様行動の改善効果を認めた³⁷⁾。既に臨床応用されているグルタミン酸作動性および GABA 作動性の神経伝達系に作用するアカンプロサートは、アルコール依存症者における断酒時のグルタミン酸作動系の過剰活動の抑制からアルコールに対する渴望を減少させることで、治療法として確立している。ところで、グルタミンナーゼ阻害剤は依存症の新規治療薬となる可能性があるが、モデルマウスでの薬理行動解析によれば、新奇求性や社会性には作用せず、依存症の一部の症状にのみ治療効果を持つ

と解釈できる。依存症の全ての表現型を説明する関連分子を明らかにするためには、NrCAM が影響を与える他の神経ネットワークや分子について網羅的に解明を進める必要があり、現在、GABA 関連タンパクなどいくつかの興味深い知見が得られている³⁹⁾。

2.2 その他の接着因子

NrCAM は他の神経接着因子との相互作用を持つことから、それらの分子について解析が進められている。たとえば PTPRD (Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type D) は、シナプスの形成と安定性、神経細胞間のシグナル伝達に関与する重要な役割を持つ。NrCAM と同様に依存症と遺伝子の関連が示され、動物モデル解析にて、PTPRD の欠損は新奇探索行動や不安行動などの行動特性を変化させることが示唆されている⁴⁰⁾⁴¹⁾。

接着因子群はモノアミンシステムを含めた神経ネットワークを制御しており、依存性物質が短期および長期的に作用した脳における神経ネットワークの再構築、すなわち依存脳形成に重要な役割を果たしていると考えられる。神経接着因子の研究は、依存症の新たな治療法の開発に向けた有望な基盤を提供することになると考えられる。

考 察

物質依存症の発症や進行には、特定の遺伝子多型だけでなく、環境要因との相互作用が重要な役割を果たしていることが多くの研究で示唆されている。たとえば、アルコールやニコチン、大麻などの依存性物質使用については文化や国家間にて倫理・宗教および社会通念が異なり、物質使用自体が禁じられているなど、依存症形成に至るまでの不安や危害回避の認識が異なる。地域間でも物質へのアクセスの容易さは異なり、時代によっても物質使用の違法性や流行/忌避のトレンドの変化が起こる。おそらくこうした差異が異なる疾患感受性遺伝子の効果

量 (effect size) となり、解析結果にも影響するものと考えられる。我々も解析試料の収集において、人種とともに地域と試料収集期間を限定するなどの配慮をしてきた。また、ストレスやトラウマ体験などの環境要因は、ドーパミンやセロトニン、エンドカンナビノイドシステムの活動に影響を及ぼし、これらのシステムに関与する遺伝子多型と複合的に作用することで依存症リスクを増大させる。このような『遺伝子-環境交互作用 (G×E)』の視点から、依存症形成における各遺伝子の影響を理解することは、依存症リスクの高い個体の早期発見や予防、個別化された治療法の開発においても重要である。今後の研究では、さまざまな環境要因がどのように遺伝子の作用を修飾し、依存行動や関連する表現型に寄与するかを明らかにすることが求められる。

さらに、基礎研究知見の臨床への応用を考えると、物質依存の治療には、薬物療法、心理療法、リハビリテーション、グループセラピーなど、多角的なアプローチが必要である。依存症の各特性 (表現型) に関わる分子メカニズムを包括的に解明することで、個々の患者に適した薬物療法の開発と施行が可能になり、依存症治療の精度が向上することが期待される。また、心理療法においても、遺伝学的特性に基づいた認知行動療法が効果的であり、依存症からの回復と再発予防に大きく貢献する可能性がある。

引用文献

- Nathaniel D Daw, Sham Kakade, Peter Dayan: Opponent interactions between serotonin and dopamine. *Neural Netw*, 15(4-6): 603-616, 2002.
- Wernke Z: Neural Circuits for Reward. *Neural Circuits of Innate Behaviors* Springer Nature, pp. 35-41, 2020.
- 菱本明豊: アルコール依存の生物学. *日本生物学的精神医学会誌*, 21(1): 39-46, 2010.
- Kalivas PW, Volkow ND: The neural basis of addiction: A pathology of motivation and choice. *American Journal of Psychiatry*, 162(8): 1403-1413, 2005.
- Trantham-Davidson H, Chandler LJ: Alcohol-induced alterations in the glutamatergic system: Implications for alcohol dependence. *Brain Res*, 1628: 102-114, 2013.
- Colombo G, Serra S, Vacca G, Carai MA, Gessa GL: Endocannabinoid system and alcohol addiction: pharmacological studies. *Pharmacol Biochem Behav*, 81: 369-380, 2005.
- Thanos PK, Dimitrakakis ES, Rice O, Gifford A, Volkow ND: Ethanol self-administration and ethanol conditioned place preference are reduced in mice lacking cannabinoid CB1 receptors. *Behav Brain Res*, 164: 206-213, 2005.
- Houchi H, Babovic D, Pierrefiche O, Ledent C, Daoust M, Naassila M: CB1 receptor knockout mice display reduced ethanol-induced conditioned place preference and increased striatal dopamine D2 receptors. *Neuropsychopharmacology*, 30: 339-349, 2005.
- Castillo PE, Younts TJ, Chávez AE, Hashimoto-dani Y: Endocannabinoid signaling and synaptic function. *Neuron*, 76(1): 70-81, 2012.
- Lovinger DM: Presynaptic modulation by endocannabinoids. *Handb Exp Pharmacol*, 184: 435-77, 2008.
- Navarrete F, García-Gutiérrez MS, Jurado-Barba R, Rubio G, Gasparyan A, *et al.*: Endocannabinoid System Components as Potential Biomarkers in Psychiatry. *Front Psychiatry*, 11: 315, 2020.
- Ishiguro H, Arinami T, Saito T, Akazawa S, Enomoto M, *et al.*: Association study between the -141C Ins/Del and TaqI A polymorphisms of the dopamine D2 receptor gene and alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res*, 22(4): 845-848, 1998.
- Zhang J, Yan P, Li Y, Cai X, Yang Z, *et al.*: A 35.8 kilobases haplotype spanning ANKK1 and DRD2 is associated with heroin dependence in Han Chinese males. *Brain Res*, 1688: 54-64, 2018.
- Kumar P, Chaudhary A, Rai V: Evaluation of the Relationship Between Dopamine Receptor D2 Gene TaqIA1 Polymorphism and Alcohol Dependence Risk. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 39: 301-311, 2024.
- Wang TY, Lee SY, Chen SL, Huang SY, Chang YH, *et al.*: Association between DRD2, 5-HTTLPR, and ALDH2 genes and specific personality traits in alcohol- and opiate-dependent patients. *Behav Brain Res*, 250: 285-292, 2013.
- Smolka MN, Reimold M, Kobiella A, Reischl G, Rietschel M, Heinz A: Smoking moderates association of 5-HTTLPR and in vivo availability of serotonin transporters. *Eur Neuropsychopharmacol*, 29(2): 171-178, 2019.
- Ishiguro H, Saito T, Akazawa S, Mitushio H, Tada K, *et al.*: Association between drinking-related antisocial behavior and a polymorphism in the sero-

- tonin transporter gene in a Japanese population. *Alcohol Clin Exp Res*, 23(7): 1281–1284, 1999.
- 18) Rubens M, Ramamoorthy V, Attonito J, Sxena A, Appunni S, *et al.*: A review of 5-HT transporter linked promoter region (5-HTTLPR) polymorphism and associations with alcohol use problems and sexual risk behaviors. *J Community Genet*, 7(1): 1–10, 2016.
 - 19) Ishiguro H, Higuchi S, Arinami T, Onaivi ES: Association between alcoholism and the gene encoding the endocannabinoid synthesizing enzyme diacylglycerol lipase alpha in the Japanese population. *Alcohol*, 68: 59–62, 2018.
 - 20) Gong JP, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu QR, Tagliaferro PA, *et al.*: Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res*, 1071(1): 10–23, 2006.
 - 21) Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M: Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 365: 61–65, 1993.
 - 22) Zhang PW, Ishiguro H, Ohtsuki T, Hess J, Carillo F, *et al.*: Human cannabinoid receptor 1: 5' exons, candidate regulatory regions, polymorphisms, haplotypes and association with polysubstance abuse. *Mol Psychiatry*, 9(10): 916–931, 2004.
 - 23) Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, Koga M, Imai K, *et al.*: Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 67(10): 974–982, 2010.
 - 24) Ishiguro H, Carpio O, Horiuchi Y, Shu A, Higuchi S, *et al.*: A nonsynonymous polymorphism in cannabinoid CB2 receptor gene is associated with eating disorders in humans and food intake is modified in mice by its ligands. *Synapse*, 64(1): 92–96, 2010.
 - 25) Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Meozzi PA, *et al.*: Functional expression of brain neuronal CB2 cannabinoid receptors are involved in the effects of drugs of abuse and in depression. *Ann N Y Acad Sci*, 1139: 434–449, 2008.
 - 26) Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Meozzi PA, *et al.*: Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. *PLoS One*, 3(2): e1640, 2008.
 - 27) Ishiguro H, Iwasaki S, Teasensfitz L, Higuchi S, Horiuchi Y, *et al.*: Involvement of cannabinoid CB2 receptor in alcohol preference in mice and alcoholism in humans. *macogenomics J*, 7(6): 380–385, 2007.
 - 28) Kibret BG, Ishiguro H, Horiuchi Y, Onaivi ES: New Insights and Potential Therapeutic Targeting of CB2 Cannabinoid Receptors in CNS Disorders. *Int J Mol Sci*, 23(2): 975, 2022.
 - 29) Canseco-Alba A, Schanz N, Ishiguro H, Liu QR, Onaivi ES: Behavioral Evaluation of Seeking and Preference of Alcohol in Mice Subjected to Stress. *Bio Protoc*, 8(20): e3061, 2018.
 - 30) Ishiguro H, Kibret BG, Horiuchi Y, Onaivi ES: Potential Role of Cannabinoid Type 2 Receptors in Neuropsychiatric and Neurodegenerative Disorders. *Front Psychiatry*, 13: 828895, 2022.
 - 31) Canseco-Alba A, Tabata K, Momoki Y, Tabassum T, Horiuchi Y, *et al.*: Cannabinoid CB2 receptors and hypersensitivity to methamphetamine: Vulnerability to schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 130: 110924, 2024.
 - 32) Roberts A, Christian M, Dilone LN, Nelson N, Endrino MJ, *et al.*: Alcohol induced behavioral and immune perturbations are attenuated by activation of CB2 cannabinoid receptors. *Adv Drug Alcohol Res*, 3: 11602, 2023.
 - 33) Grabon W, Rheims S, Smith J, Bodenec J, Belmeguenai A, *et al.*: CB2 receptor in the CNS: From immune and neuronal modulation to behavior. *Neurosci Biobehav Rev*, 150: 105226, 2023.
 - 34) Ishiguro H, Horiuchi Y, Tabata K, Liu QR, Arinami T, *et al.*: Cannabinoid CB2 Receptor Gene and Environmental Interaction in the Development of Psychiatric Disorders. *Molecules*, 23(8): 1836, 2018.
 - 35) Kibret BG, Roberts A, Kneebone A, Embaby S, Fernandez J, *et al.*: Cannabinoid CB2 receptors modulate alcohol induced behavior, and neuro-immune dysregulation in mice. *Behav Brain Res*, 448: 114439, 2023.
 - 36) Ishiguro H, Liu QR, Gong JP, Hall FS, Ujike H, *et al.*: NrCAM in addiction vulnerability: positional cloning, drug-regulation, haplotype-specific expression, and altered drug reward in knockout mice. *Neuropsychopharmacology*, 31(3): 572–584, 2006.
 - 37) Ishiguro H, Hall FS, Horiuchi Y, Sakurai T, Hishimoto A, *et al.*: NrCAM-regulating neural systems and addiction-related behaviors. *Addict Biol*, 19(3): 343–353, 2014.
 - 38) Ishiguro H, Miyake K, Tabata K, Mochizuki C, Sakurai T, *et al.*: Neuronal cell adhesion molecule regulating neural systems underlying addiction. *Neuropsychopharmacol Rep*, 39(1): 10–16, 2019.
 - 39) Yoo BK, Shim JC, Lee BD, Kim C, Chung YI, *et al.*: Association of the Neuronal Cell Adhesion Molecule (NrCAM) Gene Variants with Personality Traits and Addictive Symptoms in Methamphetamine Use Disorder. *Psychiatry Investig*, 9(4): 400–407, 2012.
 - 40) Drgonova J, Walther D, Wang KJ, Hartstein GL, Lochte B, *et al.*: Mouse Model for Protein

Tyrosine Phosphatase D (PTPRD) Associations with Restless Leg Syndrome or Willis-Ekbom Disease and Addiction: Reduced Expression Alters Locomotion, Sleep Behaviors and Cocaine-Conditioned Place Preference. *Mol Med*, 21(1):

717–725, 2015.

- 41) Uhl GR, Martinez MJ: PTPRD: neurobiology, genetics, and initial pharmacology of a pleiotropic contributor to brain phenotypes. *Ann N Y Acad Sci*, 1451(1): 112–129, 2019.

The Molecular Mechanisms by Focusing on The Phenotypes of Addiction and Behavioral Traits in Substance Dependence

Hiroki ISHIGURO

Department of Clinical Genetics, Graduate School of Medicine, University of Yamanashi

Abstract: Substance dependence is a disorder characterized by the formation of psychological- and physical-dependence on substances such as alcohol, nicotine, and cannabis, and other illegal drugs leading to severe disruptions in daily life. The causes lie in complex molecular mechanisms involving both genetic and environmental factors. Dependence also encompasses multiple phenotypes, including reinforcement of pleasure and reward sensations, tolerance development, withdrawal symptoms, and relapse tendencies. This review discusses findings on neurotransmitter systems involved in dependence formation, focusing on the dopamine system, serotonin system, GABA system, glutamate system, and endocannabinoid system, which are primarily linked to the brain's reward pathways. These systems interact to influence neural plasticity associated with pleasure reinforcement, as well as learning and memory, thereby facilitating the progression of addiction. Furthermore, neural cell adhesion molecules contribute to synaptic formation and stability of neural circuits, playing a role in the long-term effects of addictive substances. Understanding that substance dependence comprises multiple phenotypes and elucidating the underlying molecular mechanisms could aid in advancing prevention strategies and the development of personalized treatments for addiction.

Key words: substance dependence, Behavioral Trait, monoaminergic system, endocannabinoid system, Neural cell adhesion molecules