

## [论著]

**ADRA1A 基因多态性与恐惧记忆的关联研究\***陈斯婧<sup>1</sup> 邓佳慧<sup>1</sup> 时杰<sup>2</sup> 师乐<sup>1,2\*\*</sup> 陆林<sup>1,2\*\*</sup><sup>1</sup>(北京大学第六医院 北京大学精神卫生研究所 卫生部精神卫生学重点实验室(北京大学),  
国家精神心理疾病临床医学研究中心(北京大学第六医院) 北京 100191)<sup>2</sup>(北京大学中国药物依赖性研究所 北京 100191)

**摘要** 目的:本研究基于条件性恐惧记忆理论模型 探索 ADRA1A 基因多态性对恐惧记忆获得、消退、表达及泛化的影响。  
方法:对招募的 91 名年龄范围在 18-30 岁的健康男性汉族受试者进行为期 3 天的条件性恐惧记忆训练、消退及测试。采用 MassARRAY 基因分型方法确定受试者在 ADRA1A 基因上两个单核苷酸多态性位点 rs573514 及 rs17426222 的基因型,并运用重复测量方差分析的方法分析 ADRA1A 基因多态性与恐惧记忆获得、消退、表达及泛化的关联。**结果:**ADRA1A 基因的单核苷酸多态性位点 rs573514 及 rs17426222 位点对恐惧记忆的获得、消退、自发恢复、复燃及泛化均不产生影响( $P > 0.05$ )。**结论:**ADRA1A 基因的 rs573514 与 rs17426222 多态性位点可能不影响恐惧记忆和消退记忆。

**关键词** 恐惧记忆; ADRA1A; 基因多态性

doi: 10.13936/j.cnki.cjdd1992.2018.03.004

中图分类号 R964

**Associations between ADRA1A gene polymorphisms and fear memory**CHEN Sijing<sup>1</sup>, DENG Jiahui<sup>1</sup>, SHI Jie<sup>2</sup>, SHI Le<sup>1,2</sup>, LU Lin<sup>1,2</sup><sup>1</sup>(Peking University Sixth Hospital, Peking University Institute of Mental Health, Key Laboratory of Mental Health, Ministry of Health (Peking University), National Clinical Research Center for Mental Disorders (Peking University Sixth Hospital), Beijing 100191, China)<sup>2</sup>(National Institute on Drug Dependence, Peking University, Beijing, 100191, China)

**Abstract** *Objective:* In the current study, we investigated the role of ADRA1A gene polymorphisms in fear memory acquisition, extinction, expression and generalization in participants. *Methods:* A total of 91 young healthy native Han Chinese men, aged 18-30, underwent a three-day Pavlovian fear conditioning paradigm. Participants were genotyped for two single-nucleotide polymorphisms rs573514 and rs17426222 of ADRA1A by using MassARRAY genotyping system. The repeated measures analysis of variance was conducted to detect the effect of genetic variability in the noradrenergic system on fear memory acquisition, extinction, expression and generalization. *Results:* We did not find significant effects of rs573514 and rs17426222 in the ADRA1A gene on fear memory acquisition, extinction, test and fear generalization in humans ( $P > 0.05$ ). *Conclusion:* Genetic variability in rs573514 and rs17426222 might be unrelated to fear memory and extinction memory.

**Keywords** fear memory; ADRA1A; gene polymorphisms

\* 国家重点基础研究发展计划项目(2015CB856400)、北京市自然科学基金项目(Z151100003915121)、国家科技支撑计划项目(2015BAI13B01)、国家自然科学基金项目(81521063)资助。

\*\* 通信作者: E-mail: lesli@bjmu.edu.cn; linlu@bjmu.edu.cn

学习和记忆外界环境中使自身产生恐惧情绪的事物对个体的生存至关重要,但是恐惧记忆的过度表达也会使个体罹患一系列与恐惧记忆相关的精神心理疾病,如创伤后应激障碍、焦虑障碍等<sup>[1-3]</sup>。然而在现实生活中,恐惧记忆相关精神疾病在发生发展过程中往往存在着个体差异。研究者利用条件性恐惧

记忆理论模型探究恐惧记忆相关精神疾病的发病机制时发现,个体调节恐惧记忆及消退记忆的能力不同,这可能是个体罹患恐惧记忆相关精神疾病的风险存在差异的主要原因之一,但其背后潜在的遗传因素及分子信号通路仍有待探究<sup>[4]</sup>。因此,识别个体差异化调节恐惧记忆及消退记忆的基因多态性位点,有助于揭示恐惧记忆相关精神疾病的病理机制。

肾上腺素能系统的功能异常与恐惧记忆相关精神疾病密切相关<sup>[5-6]</sup>。肾上腺素能系统主要依靠两类受体发挥生物学效应, $\alpha$ 受体和 $\beta$ 受体<sup>[7-8]</sup>,其中包括 $\alpha_{1A}$ 受体( $\alpha_1$ -Adrenergic Receptor, ADRA1A)是肾上腺素能系统的一个生物传感器,能够介导去甲肾上腺素和肾上腺素发挥生物学功能<sup>[9]</sup>。动物实验发现,在条件性恐惧记忆训练及记忆表达测试时,向大鼠的中脑腹侧被盖区注射ADRA1A的抑制剂哌唑嗪和特拉唑嗪,能够抑制恐惧记忆的形成及唤起<sup>[10]</sup>。而在条件性恐惧记忆训练之后的再巩固阶段,于大鼠的内侧前额叶皮质(Medial Prefrontal Cortex, mPFC)注射哌唑嗪,也能够抑制随后的恐惧记忆表达<sup>[11]</sup>。这些研究提示,由ADRA1A介导的肾上腺素能信号转导与恐惧记忆的调控密切相关,改变ADRA1A的活性可能会影响恐惧记忆的获得、消退以及随后的记忆表达等过程,从而导致不同个体在处理恐惧信息时的能力不同以及罹患恐惧记忆相关精神疾病的风险具有差异。然而,目前尚无研究探索ADRA1A的基因变异对个体恐惧记忆及消退记忆不同阶段的作用。仅有研究显示在法国老年人群中,ADRA1A基因的单核苷酸多态性(Single-Nucleotide Polymorphism, SNP)位点rs573514及rs17426222与广泛性焦虑障碍(Generalized Anxiety Disorder, GAD)的发病风险显著相关<sup>[12]</sup>,提示ADRA1A基因的变异可能是恐惧记忆相关精神疾病发生的风险因素之一。

本研究主要采用条件性恐惧记忆训练范式,并运用MassARRAY基因型分析技术探索ADRA1A基因的SNP位点rs573514及rs17426222与恐惧记忆获得、消退记忆学习、测试时的记忆表达及恐惧记忆泛化的关联,以期更深入地理解个体调控恐惧记忆与消退记忆的遗传学机制,以及肾上腺素能系统在恐惧记忆不同阶段中的作用。

## 1 研究对象与方法

### 1.1 研究对象

本研究共纳入91名年龄范围在18-30岁的健

康男性汉族受试者,所有受试者均在北京大学第六医院完成为期3d的条件性恐惧记忆训练任务。要求入组的受试者未患有任何严重的精神或躯体疾病,且在实验期间未服用任何药物。该研究方案通过北京大学第六医院伦理委员会审核,所有受试者均签署知情同意书。

研究选择位于ADRA1A基因内含子区域的两个多态性位点rs573514及rs17426222与恐惧记忆及消退记忆进行关联分析。其中,rs573514的野生等位基因为C,突变等位基因为G;rs17426222的野生等位基因为C,突变等位基因为T。在rs573514多态性与恐惧记忆及消退记忆的关联研究中,根据基因型将受试者分为G等位基因纯合子组、杂合子携带者组及A等位基因纯合子组。在rs17426222多态性与恐惧记忆及消退记忆的关联研究中,为了最大程度地提高统计效能,在结果分析过程中将携带T等位基因纯合子的受试者与携带杂合子的受试者合为一组,受试者被分为T等位基因携带者组与C等位基因纯合子组。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 问卷调查** 在问卷调查阶段,采集入组受试者的基线人口学资料、疾病相关信息、用药情况等。人口学资料包括年龄、民族、婚姻状况、职业、受教育年限、锻炼情况、利手使用情况、身高、体重等,并根据身高与体重计算身体质量指数(Body Mass Index, BMI)。研究者还利用抑郁自评量表(Self-Rating Depression Scale, SDS)和焦虑自评量表(Self-Rating Anxiety Scale, SAS)对受试者近期的情绪状态进行评定<sup>[13-14]</sup>。由于在条件性恐惧记忆训练过程中,需要受试者通过反复学习,获得能够稳定表达的恐惧记忆和消退记忆,因此采用蒙特利尔认知评估量表(Montreal Cognitive Assessment, MoCA)和数字广度测试(Digit Span Test, DST)对受试者的一般认知功能进行评估<sup>[15-16]</sup>。

**1.2.2 行为实验** 参照本课题组既往实验流程,在实验过程中,每位受试者均接受为期3d的条件性恐惧记忆训练及测试<sup>[17-19]</sup>。资料收集、量表评估、条件性恐惧记忆训练和测试均在上午8:00-11:00间进行。受试者抵达实验地点后,首先进行一般人口学资料的收集和量表的测查评估。在恐惧记忆的获得阶段(第1d),符合入组要求的受试者需要完成条件性恐惧记忆的学习。在学习过程中,受试者面前的电脑屏幕依次呈现数张彩色的正方形图片(红色或黄色),每张图片呈现4s,前后两张图片之

间的时间间隔为 8-12 s,此时屏幕上会呈现一个十字形标记点,要求受试者在整个实验过程中都注意观看屏幕。实验采用彩色正方形图片为条件性刺激(Conditioned Stimulus, CS-),非条件性刺激(Unconditioned Stimulus, US)则为手臂处的电刺激。在实验开始前,电刺激强度会根据每个受试者的不同情况进行调适,设定电刺激强度在受试者能够忍受的最大范围内。

在恐惧记忆的学习阶段,实验选取一种颜色的正方形为 CS+,并与 US 进行匹配(强化率为 50%,即每出现 10 个 CS+有 5 个与电刺激匹配),另一种颜色的正方形则为不与 US 进行匹配的 CS-。为了保证实验设计的均衡性,本研究随机选择黄色或红色图片作为 CS+。恐惧记忆的获得过程共包含 8 个 CS-和 8 个不伴有电刺激出现的 CS+,期间还会随机穿插 8 个与电刺激相匹配的 CS+。但是为了避免电刺激对皮肤电导反应(Skin Conductance Response, SCR)产生影响,以及为了判断受试者是否学会电刺激与图片之间的关系,在评定受试者的条件性恐惧反应时,只将受试者看到其后不伴有电刺激的 CS+时产生的 SCR 纳入计算。

在实验的第 2 d,受试者需要完成由 15 个其后不伴有电刺激的 CS+和 15 个 CS-组成的消退学习训练。消退学习过程共包含 5 组训练,每 3 个 CS+和 CS-构成一组训练,分别取 3 个 CS+的 SCR 和 3 个 CS-的 SCR 的平均值即为受试者在每组训练中对 CS+和 CS-的条件性恐惧反应。在消退学习中,训练组间没有时间间隔,没有休息时间,也没有信号转换。

消退训练结束后 24 h 进行恐惧记忆的自发恢复、复燃以及泛化测试。为了保证在复燃测试之前受试者的条件性恐惧反应已回到基线水平,自发恢复测试共包含 20 次训练,每次训练呈现一个 CS-和一个不伴有电刺激的 CS+。取前 3 次训练中 CS+和 CS-的 SCR 平均值用以评估受试者消退记忆的表达强度,并判断受试者是否出现恐惧记忆的自发恢复。在自发恢复测试结束 1 min 后,受试者会在没有提示的情况下接受 3 次电刺激,随后进行复燃测试,复燃测试与电刺激之间没有时间间隔。为了保证在恐惧记忆泛化测试之前受试者的条件性恐惧反应已回到基线水平,复燃测试也包含 20 次训练,即 20 个 CS-和 20 个不伴有电刺激的 CS+。取前 3 次训练中 CS+和 CS-的 SCR 平均值反映受试者恐惧记忆的复燃效应。

恐惧记忆泛化测试在复燃测试之后进行。测试时屏幕上呈现与 CS 相似的泛化刺激(Generalization Stimuli, GS) 本研究选取的是彩色圆形图片(红色或黄色)。与 CS+颜色相同的 GS 为 GS+,与 CS-颜色相同的 GS 则为 GS-。泛化测试共包括 3 次训练,每次训练呈现一个 GS+和一个 GS-。取 3 次训练中 GS+和 GS-的 SCR 平均值用以评估受试者是否存在恐惧记忆的泛化。

**1.2.3 电刺激与皮肤电导反应评估** 条件性恐惧记忆的获得与测试过程中给予受试者的电刺激由 STM200 刺激器(BIOPAC Systems, Goleta, CA, USA)发出,刺激部位为受试者右前臂内侧,刺激的强度由安装于电脑上的 E-Prime 软件(Psychology Software Tools, Sharpsburg, PA, USA)控制。实验选取可以稳定记录交感神经反应的 SCR 作为评估恐惧记忆形成及其表达强度的指标。采用美国 BIOPAC MP150 系统记录受试者的 SCR,并使用 AcqKnowledge 4.2 软件对数据进行提取与分析。通过与 BIOPAC 系统连接的医用氯化银电极接收 SCR 信号,利用导电膏使电极与人体左手食指和中指第二指节的皮肤贴合。SCR 的输出信号经过低通滤波处理和平滑处理。计算 SCR 时,用每个 CS 刺激出现后的 0-6 s 时间窗内 SCR 的最大值减去最小值作为个体的反应值,并将数据开方处理使其在统计学上呈正态分布。

**1.2.4 基因分型** 每名受试者在知情同意后都抽取 10 ml 外周静脉血,置于含乙二胺四乙酸抗凝剂的抗凝管中,采用 BioTeke 公司的血液基因组脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid, DNA)提取试剂盒提取 DNA,并将 DNA 置于 -80°C 冰箱冷冻保存以备之后使用。研究纳入的 SNP 位点 rs573514 及 rs17426222 均采用 Agena Bioscience 公司 MassArray 平台(Agena Bioscience Inc., San Diego, CA, USA)的 IPLEX™ 检测方法进行基因型分析。

**1.2.5 统计学方法** 本研究根据每名受试者的 SCR 数据来评估恐惧记忆及消退记忆的形成及其表达强度,组间比较采用重复测量方差分析(Analysis of Variance, ANOVA)。研究分析的人口学数据包括年龄、教育年限、身高、体重、BMI、SDS 标准分、SAS 标准分、MoCA 总分与 DST 正向和反向评分,两组间比较采用独立样本 t 检验,三组间比较采用单因素 ANOVA。采用 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验所研究的 SNP 位点在受试者中是否符合遗传平衡。所有数据均以平均值 ± 标准误的形式表示。统计学

显著水平定为  $P < 0.05$ , 采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析。

## 2 结果

### 2.1 rs573514 多态性与恐惧记忆及消退记忆的关联研究

#### 2.1.1 人口学资料 在所纳入的受试者中, G 等位基因纯合子(GG)为 20 名、杂合子携带者(GA)为

46 名、A 等位基因纯合子(AA)为 25 名。3 组受试者的年龄、体重、BMI、SDS 标准分、SAS 标准分、MoCA 总分与 DST 正向和反向评分均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但教育年限及身高存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ) (表 1)。在随后的分析中, 将教育年限及身高作为协变量。SNP 位点 rs573514 符合 Hardy - Weinberg 遗传平衡(表 2)。

表 1 人口学资料及电刺激强度统计分析

	GG( n = 20)	GA( n = 46)	AA( n = 25)	P
年龄 / years	23.80 ± 0.53	24.15 ± 0.28	23.68 ± 0.48	0.64
教育年限 / years	16.35 ± 0.39	17.54 ± 0.27	16.24 ± 0.36	0.01
身高 / cm	172.40 ± 0.86	174.21 ± 0.70	176.08 ± 1.12	0.04
体重 / kg	65.70 ± 1.74	67.64 ± 1.35	69.72 ± 2.12	0.35
BMI	22.09 ± 0.52	22.26 ± 0.40	22.44 ± 0.58	0.91
SDS(标准分)	36.50 ± 1.42	35.73 ± 0.86	37.05 ± 1.62	0.72
SAS(标准分)	34.63 ± 1.70	34.65 ± 0.91	35.25 ± 1.29	0.93
MOCA	27.85 ± 0.28	27.89 ± 0.24	28.00 ± 0.26	0.93
DST 正向	9.10 ± 0.32	9.50 ± 0.21	9.36 ± 0.26	0.56
DST 反向	7.65 ± 0.34	7.73 ± 0.23	7.12 ± 0.32	0.27
电刺激强度	46.81 ± 1.85	49.12 ± 1.78	48.36 ± 1.23	0.77

注: SDS, 抑郁自评量表; SAS, 焦虑自评量表; MoCA, 蒙特利尔认知评估量表; DST, 数字广度测试。

表 2 rs573514 的 Hardy - Weinberg 遗传平衡检验及基因型频率

SNP	P	频率		
rs573514	0.89	GG	GA	AA
		20	46	25

注: SNP, 单核苷酸多态性。

2.1.2 恐惧记忆获得过程 以基因型为组间因素(GG、GA 或 AA)、CS 类型(CS + 或 CS -)为组内因素的重复测量 ANOVA 显示, 在恐惧记忆的获得阶段所有受试者对 CS + 和 CS - 的反应之间都存在显著差异 ( $F_{(1, 88)} = 215.41, P < 0.001$ ), 并且, 三组受试者对 CS + 的 SCR 均显著高于 CS -。其中 G 等位基因纯合子对 CS + 的 SCR 为  $0.83 \pm 0.03$ , 对 CS - 的 SCR 为  $0.70 \pm 0.03$ ; 杂合子携带者对 CS + 的 SCR 为  $0.82 \pm 0.03$ , 对 CS - 的 SCR 为  $0.70 \pm 0.02$ ; A 等位基因纯合子对 CS + 的 SCR 为  $0.86 \pm 0.04$ , 对 CS - 的 SCR 为  $0.71 \pm 0.04$  (图 1)。该结果表明三组受试者均成功获得了恐惧记忆。然而研究发现, 三组受试者在恐惧记忆的获得过程中不存在组间差异 ( $F_{(2, 88)} = 0.16, P = 0.85$ ), 且不同基因型的受试者对不同 CS 的恐惧反应之间也不存在显著差

异 ( $F_{(2, 88)} = 0.86, P = 0.43$ )。校正混杂因素(教育年限、身高)后, 不同基因型受试者之间的差异仍不具有统计学意义 ( $F_{(2, 86)} = 0.31, P = 0.73$ ), 且基因型与 CS 之间也无交互效应 ( $F_{(2, 86)} = 0.75, P = 0.48$ )。研究结果提示, rs573514 位点多态性对恐惧记忆的获得可能无影响。

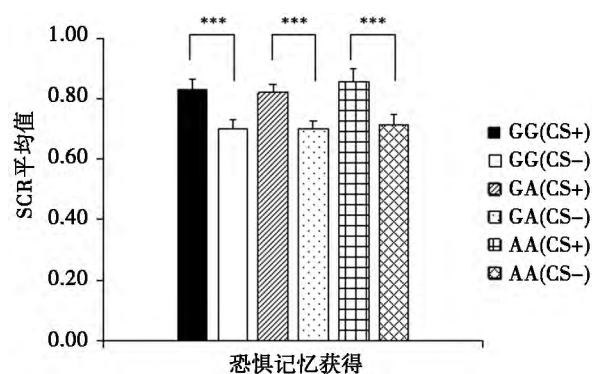


图 1 恐惧记忆学习过程的皮肤电导反应

注: SCR, 皮肤电导反应; CS, 条件性刺激。GG 组,  $n = 20$ ; GA 组,  $n = 46$ ; AA 组,  $n = 25$ 。误差条代表平均值的标准误, \*\*\*代表  $P < 0.001$  (重复测量方差分析)。

**2.1.3 消退记忆学习过程** 在消退记忆学习过程中以训练组次(1-5组)与CS类型(CS+或CS-)为组内因素,受试者的基因型(GG、GA或AA)为组间因素进行的重复测量ANOVA分析发现,不同训练组次之间存在显著差异( $F_{(4,704)} = 46.58, P < 0.001$ ) (图2),表明三组受试者在经过消退记忆学习训练后恐惧反应均显著降低。然而,分析显示不同基因型受试者的条件性恐惧反应不存在显著差异( $F_{(2,176)} = 0.03, P = 0.97$ ),基因型与CS之间不存在交互效应( $F_{(2,176)} = 0.06, P = 0.95$ )并且训练组次、基因型与CS三者间也不存在交互效应( $F_{(8,704)} = 0.24, P = 0.98$ )。校正混杂因素(教育年限、身高)后,不同基因型受试者之间条件性恐惧反应的差异仍无统计学意义( $F_{(1,85)} = 0.06, P = 0.81$ ),且基因型与CS之间( $F_{(1,85)} = 0.04, P = 0.85$ )和训练组次、基因型与CS三者间仍不存在交互效应( $F_{(4,340)} = 0.58, P = 0.68$ )。这些研究结果提示,G等位基因纯合子、杂合子携带者与A等位基因纯合子在训练过程中对消退记忆的学习能力相当。此外,在消退学习的第一组训练中,以基因型(GG、GA或AA)为组间因素、CS类型(CS+或CS-)为组内因素的重复测量ANOVA发现,基因型与CS之间不存在交互效应( $F_{(2,88)} = 0.23, P = 0.80$ ),校正混杂因素(教育年限、身高)后,基因型与CS之间仍无交互效应( $F_{(2,86)} = 0.10, P = 0.90$ ),提示三组受试者恐惧记忆被唤起的程度不存在差异,表明SNP位点rs573514的多态性不影响恐惧记忆的维持。

**2.1.4 恐惧记忆自发恢复和复燃测试** 在自发恢复测试中,以基因型(GG、GA或AA)为组间因素、CS类型(CS+或CS-)为组内因素的重复测量ANOVA未发现三组受试者存在组间差异( $F_{(2,88)} = 0.03, P = 0.97$ ),基因型与CS之间也不存在交互效

应( $F_{(2,88)} = 1.97, P = 0.15$ ) (图3)。校正混杂因素(教育年限、身高)后,不同基因型受试者之间的差异仍无统计学意义( $F_{(2,86)} = 0.28, P = 0.76$ ),基因型与CS之间也无交互效应( $F_{(2,86)} = 1.04, P = 0.36$ )。

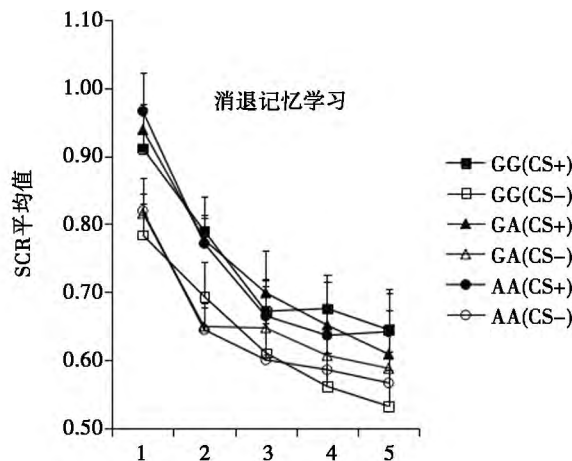


图2 消退记忆学习过程的皮肤电导反应  
注: SCR,皮肤电导反应; CS,条件性刺激。GG组  $n = 20$ ; GA组  $n = 46$ ; AA组  $n = 25$ 。误差条代表平均值的标准误,1-5代表消退训练组次。

在复燃测试中,以基因型(GG、GA或AA)为组间因素、CS类型(CS+或CS-)为组内因素的重复测量ANOVA的分析结果与自发恢复测试一致,不同基因型受试者的恐惧反应之间不存在显著差异( $F_{(2,88)} = 0.93, P = 0.40$ ),基因型与CS之间也不存在交互效应( $F_{(2,88)} = 0.23, P = 0.80$ ) (图3)。校正混杂因素(教育年限、身高)后,不同基因型受试者之间的差异仍无统计学意义( $F_{(2,86)} = 1.17, P = 0.32$ ),基因型与CS之间也无交互效应( $F_{(2,86)} = 0.05, P = 0.95$ )。以上测试结果表明,rs573514多态性对恐惧记忆的自发恢复和复燃不产生影响。

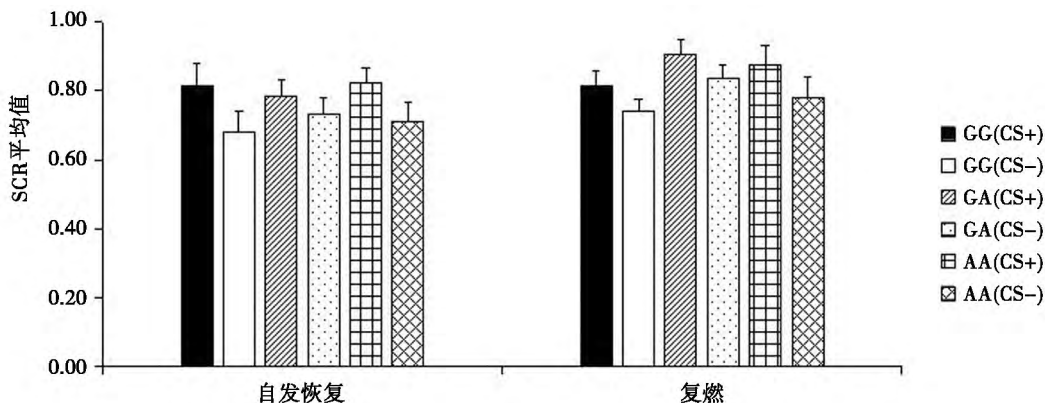


图3 恐惧记忆自发恢复和复燃测试的皮肤电导反应  
注: SCR,皮肤电导反应; CS,条件性刺激。GG组  $n = 20$ ; GA组  $n = 46$ ; AA组  $n = 25$ 。误差条代表平均值的标准误。

**2.1.5 恐惧记忆泛化测试** 以基因型(GG、GA 或 AA)为组间因素、GS 类型(GS+ 或 GS-)为组内因素的重复测量 ANOVA 发现,在恐惧记忆泛化测试中不同基因型的受试者之间不存在显著差异( $F_{(2,88)}=0.85, P=0.43$ )。基因型与 GS 之间也不存在交互效应( $F_{(2,88)}=0.14, P=0.87$ ) (图 4)。校正混杂因素(教育年限、身高)后,不同基因型受试者之间的差异仍无统计学意义( $F_{(2,86)}=1.21, P=0.30$ )。基因型与 GS 之间也无交互效应( $F_{(2,86)}=0.10, P=0.91$ )。这些发现提示 rs573514 多态性与恐惧记忆泛化之间可能不存在关联。

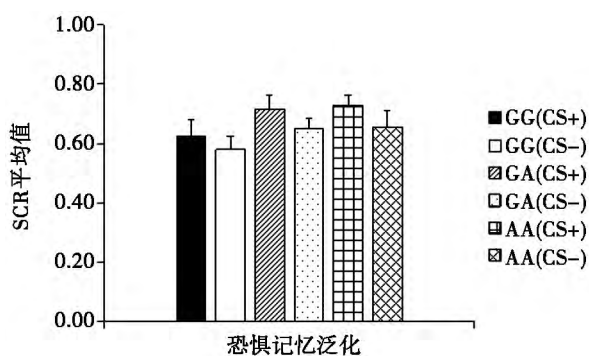


图 4 恐惧记忆泛化测试的皮肤电导反应

注: SCR 皮肤电导反应; GS 泛化刺激。GG 组  $n=20$ ; GA 组,  $n=46$ ; AA 组  $n=46$ 。误差条代表平均值的标准误。

**2.2 rs17426222 多态性与恐惧记忆及消退记忆的关联研究**

**2.2.1 人口学资料** 本研究共纳入 45 名 T 等位基因携带者(TT/CT)和 46 名 C 等位基因纯合子(CC)。两组受试者的年龄、教育年限、身高、体重、BMI、SDS 标准分、SAS 标准分、MoCA 总分与 DST 正向和反向评分间均无显著性差异( $P > 0.05$ ) (表 3)。并且 SNP 位点 rs17426222 符合 Hardy - Weinberg 遗传平衡(表 4)。

**2.2.2 恐惧记忆获得过程** 以基因型(TT/CT 或 CC)为组间因素、CS 类型(CS+ 或 CS-)为组内因素的重复测量 ANOVA 显示,在恐惧记忆的获得阶段所有受试者对 CS+ 和 CS- 的反应之间都存在显著差异( $F_{(1,89)}=234.13, P < 0.001$ )。并且,两组受试者对 CS+ 的条件性恐惧反应均显著高于 CS-。其中 T 等位基因携带者对 CS+ 的 SCR 为  $0.83 \pm 0.03$ , 对 CS- 的 SCR 为  $0.71 \pm 0.02$ ; 而 C 等位基因纯合子对 CS+ 的 SCR 为  $0.84 \pm 0.03$ , 对 CS- 的 SCR 为  $0.70 \pm 0.02$  (图 5)。该结果表明两组受试

者均成功获得了恐惧记忆。但两组受试者在恐惧记忆的获得过程中不存在组间差异,表现为不同基因型的受试者之间不存在显著差异( $F_{(1,89)} < 0.001, P = 0.98$ )。基因型与 CS 之间也不存在交互效应( $F_{(1,89)} = 1.45, P = 0.23$ )。研究结果提示,rs17426222 位点多态性对恐惧记忆的获得不产生影响。

表 3 人口学资料及电刺激强度统计分析

	TT/CT ( $n=45$ )	CC ( $n=46$ )	P	
年龄/years	23.71 $\pm$ 0.31	24.17 $\pm$ 0.32	0.30	
教育年限/years	16.96 $\pm$ 0.26	16.89 $\pm$ 0.30	0.87	
身高/cm	173.91 $\pm$ 0.65	174.74 $\pm$ 0.81	0.43	
体重/kg	66.61 $\pm$ 1.37	68.93 $\pm$ 1.38	0.24	
BMI	22.00 $\pm$ 0.41	22.54 $\pm$ 0.38	0.34	
SDS(标准分)	36.14 $\pm$ 0.83	36.39 $\pm$ 1.11	0.86	
SAS(标准分)	34.25 $\pm$ 0.88	35.35 $\pm$ 1.04	0.42	
MOCA	28.13 $\pm$ 0.18	27.70 $\pm$ 0.23	0.15	
DST	正向	9.38 $\pm$ 0.21	9.37 $\pm$ 0.20	0.98
	反向	7.76 $\pm$ 0.23	7.35 $\pm$ 0.23	0.21
电刺激强度	48.92 $\pm$ 1.69	47.80 $\pm$ 1.81	0.65	

注: SDS 抑郁自评量表; SAS 焦虑自评量表; MoCA, 蒙特利尔认知评估量表; DST 数字广度测试。

表 4 rs17426222 的 Hardy - Weinberg 遗传平衡检验及基因型频率

SNP	P	频率		
rs17426222	0.24	TT	CT	CC
		11	34	46

注: SNP 单核苷酸多态性。

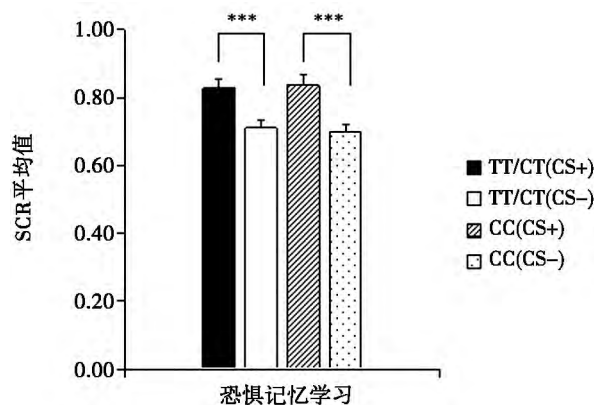


图 5 恐惧记忆学习过程的皮肤电导反应

注: SCR 皮肤电导反应; CS 条件性刺激。TT/CT 组  $n=45$ ; CC 组  $n=46$ 。误差条代表平均值的标准误,\*\*\*代表  $P < 0.001$  (重复测量方差分析)。

**2.2.3 消退记忆学习过程** 消退记忆学习过程中以训练组次(1-5组)与CS类型(CS+或CS-)为组内因素,受试者的基因型(TT/CT或CC)为组间因素进行的重复测量ANOVA分析发现,不同训练组次之间存在显著差异( $F_{(4,712)} = 52.91, P < 0.001$ ) (图6)表明两组受试者的恐惧反应随着消退的进行逐渐降低。然而,不同基因型受试者的条件性恐惧反应不存在显著差异( $F_{(1,178)} = 1.07, P = 0.30$ ),基因型与CS之间不存在交互效应( $F_{(1,178)} = 0.02, P = 0.89$ )并且训练组次、基因型与CS三者间也不存在交互效应( $F_{(4,712)} = 0.37, P = 0.83$ )。这些研究结果提示,T等位基因携带者与C等位基因纯合子在训练过程中对消退记忆的学习能力相当。此外,以基因型(TT/CT或CC)为组间因素、CS类型(CS+或CS-)为组内因素的重复测量ANOVA对第一组消退训练时的SCR分析发现,基因型与CS之间不存在交互效应( $F_{(1,89)} = 1.56, P = 0.21$ ),提示两组受试者恐惧记忆被唤起的程度不存在显著差异,表明SNP位点rs17426222的多态性不影响恐惧记忆的维持。

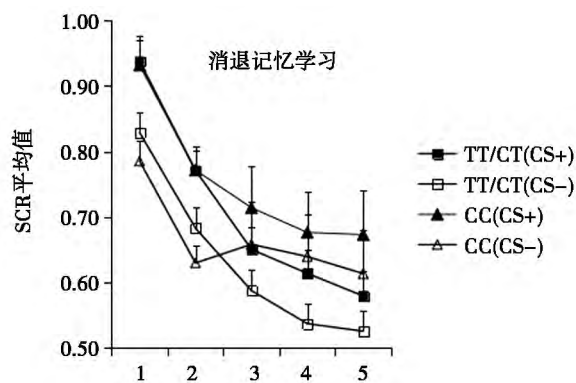


图6 消退记忆学习过程的皮肤电导反应  
注: SCR,皮肤电导反应; CS,条件性刺激。TT/CT组  $n = 45$ ; CC组  $n = 46$ 。误差条代表平均值的标准误,1-5代表消退训练组次。

**2.2.4 恐惧记忆自发恢复和复燃** 在自发恢复测试中,以基因型(TT/CT或CC)为组间因素、CS类型(CS+或CS-)为组内因素的重复测量ANOVA未发现两组受试者存在组间差异( $F_{(1,89)} = 0.01, P = 0.92$ ),且基因型与CS之间也不存在交互效应( $F_{(1,89)} < 0.001, P = 1.00$ ) (图7)。

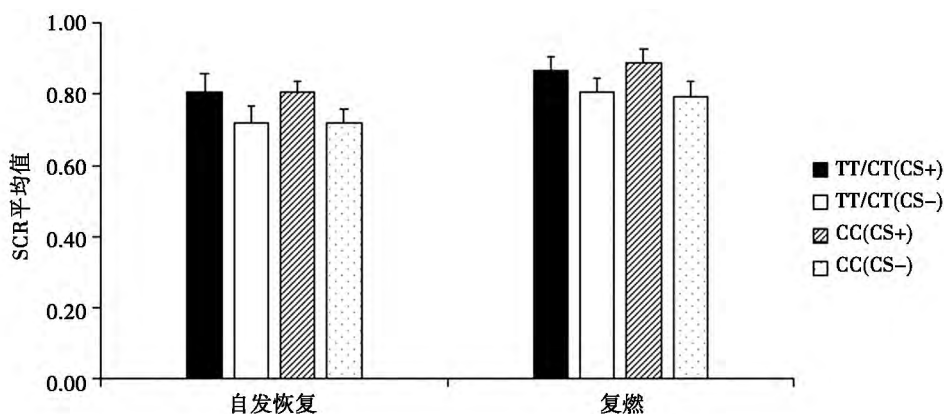


图7 恐惧记忆自发恢复和复燃测试的皮肤电导反应  
注: SCR,皮肤电导反应; CS,条件性刺激。TT/CT组  $n = 45$ ; CC组  $n = 46$ 。误差条代表平均值的标准误。

在复燃测试中,以基因型(TT/CT或CC)为组间因素、CS类型(CS+或CS-)为组内因素的重复测量ANOVA的分析结果与自发恢复测试一致,不同基因型的受试者之间不存在显著差异( $F_{(1,89)} = 0.02, P = 0.90$ ),基因型与CS之间也不存在交互效应( $F_{(1,89)} = 1.38, P = 0.24$ ) (图7)。以上结果表明,rs17426222多态性不影响恐惧记忆的自发恢复和复燃测试。

**2.2.5 恐惧记忆泛化测试** 恐惧记忆泛化测试于复燃测试之后进行。以基因型(TT/CT或CC)为组间因素、GS类型(GS+或GS-)为组内因素的重复测量ANOVA发现,在恐惧记忆泛化测试中不同基因型的受试者之间不存在显著差异( $F_{(1,89)} = 0.76, P = 0.39$ ),基因型与GS之间也不存在交互效应( $F_{(1,89)} = 0.25, P = 0.62$ ) (图8),提示rs17426222多态性与恐惧记忆泛化之间可能不存在关联。

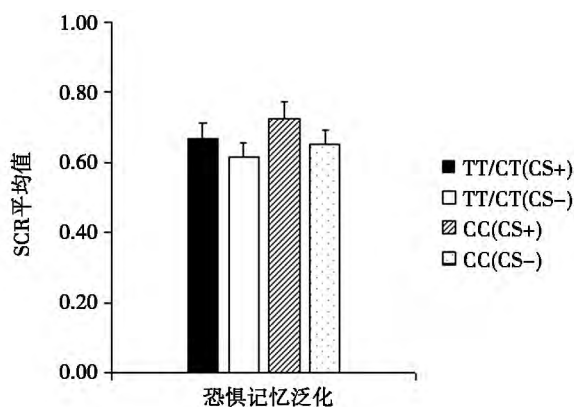


图8 恐惧记忆泛化测试的皮肤电导反应

注: SCR 皮肤电导反应; GS, 泛化刺激。TT/CT组,  $n = 45$ ; CC组,  $n = 46$ 。误差条代表平均值的标准误。

### 3 讨论

本研究在实验室条件下探究了 *ADRA1A* 基因的多态性位点 rs573514 及 rs17426222 与恐惧记忆和消退记忆的关系, 结果发现 *ADRA1A* 基因的多态性位点 rs573514 及 rs17426222 不影响恐惧记忆的获得、消退、自发恢复、复燃及泛化, 提示 *ADRA1A* 基因的遗传变异可能与恐惧记忆及消退记忆的获得和表达无关。

*ADRA1A* 基因位于 8 号染色体的 8p21.2, 含有 11 个外显子, 研究中纳入的 SNP 位点 rs573514 及 rs17426222 位于这一基因的内含子区域<sup>[12]</sup>。目前仅有部分研究报道了 *ADRA1A* 在调控恐惧记忆方面的作用, 并且研究结果之间存在差异。一项动物实验发现, 在恐惧记忆测试前于大鼠的外侧杏仁核注射 *ADRA1A* 抑制剂哌啶嗪或者全身给药, 能够促进恐惧记忆的巩固<sup>[20]</sup>。此外, 哌啶嗪还能够逆转米氮平抑制大鼠恐惧记忆表达的作用<sup>[21]</sup>。同样地, 咖啡因抑制小鼠恐惧记忆表达的作用也能被哌啶嗪逆转<sup>[22]</sup>。然而, 也有研究指出, 在条件性恐惧记忆训练及记忆表达测试时, 于大鼠的中脑腹侧被盖区注射 *ADRA1A* 的抑制剂哌啶嗪和特拉唑嗪, 能够抑制恐惧记忆的形成及表达<sup>[10]</sup>。而且在大鼠的 mPFC 注射哌啶嗪可破坏条件性恐惧记忆的再巩固过程<sup>[11]</sup>。目前的研究提示, 在不同脑区, *ADRA1A* 功能对恐惧记忆的不同阶段可能发挥不同的调节作用, 但 *ADRA1A* 与恐惧记忆之间的关联未被完全揭示, 并且尚未有研究分析 *ADRA1A* 是否会对消退记忆产生影响, 后续研究还需进一步探索 *ADRA1A* 对恐惧记忆及消退记忆的影响。

在人体试验中, 既往未有遗传关联研究探讨

*ADRA1A* 基因多态性对恐惧记忆及消退记忆的调节作用, 但有研究表明 *ADRA1A* 基因多态性与恐惧相关精神疾病存在关联。如在法国老年人群(年龄  $\geq 65$  岁)中 Zhang 等研究者首次发现 *ADRA1A* 基因的多态性位点 rs573514 及 rs17426222 与 GAD 的发病风险显著相关, 但经 Bonferroni 校正后统计学意义消失<sup>[12]</sup>, 提示 *ADRA1A* 基因对 GAD 易感性的影响可能受多种因素的调节。

虽然既往研究发现 *ADRA1A* 能够调控恐惧记忆的表达, 并且 *ADRA1A* 基因也与恐惧相关精神疾病的易感性存在关联, 但本研究并未发现 *ADRA1A* 基因与恐惧记忆及消退记忆存在关联, 研究出现阴性结果的可能原因如下: (1) 选取的 SNP 位点代表性不够, 本研究仅纳入 *ADRA1A* 基因的两个 SNP 位点, 不足以涵盖 *ADRA1A* 基因的全部遗传信息, 因此未来研究应选取更多的 SNP 位点探讨 *ADRA1A* 基因与恐惧记忆及消退记忆的关系。(2) 样本人群种族及年龄不同, 既往只有研究在法国老年 GAD 患者中调查了 *ADRA1A* 基因与恐惧记忆相关精神疾病的关联, 而本研究纳入的受试者均为中国汉族人群的健康男性。(3) 本研究纳入的两个 SNP 位点都位于内含子区域, 不影响 *ADRA1A* 基因的表达水平, 对去甲肾上腺素和肾上腺素生理作用的发挥影响有限, 可能不能直接通过调控肾上腺素能系统的功能对恐惧记忆及消退记忆产生影响。因此, 为进一步探讨 *ADRA1A* 基因与恐惧记忆及消退记忆是否存在关联, 未来研究应纳入能够影响 *ADRA1A* 基因转录及翻译效率的多态性位点。(4) 既往研究提示, *ADRA1A* 基因对恐惧相关精神疾病易感性的影响可能是与多种因素相互作用的结果, 并且在不同动物实验中, *ADRA1A* 对恐惧记忆的调控作用存在差异, 因此 *ADRA1A* 基因与恐惧记忆及消退记忆的关系可能也受其他因素影响, 从而导致阴性结果的出现。

本研究的局限性在于为了排除性别因素与基因之间的交互作用, 仅纳入男性受试者, 因而研究结果可能并不能直接扩展到女性群体。并且, 研究的样本量有限, 仅纳入 91 名受试者。后续研究需要扩大样本量及纳入女性受试者, 以避免假阴性结果的出现及性别差异对研究结果的影响, 从而保证遗传关联研究的真实性。此外, 本研究的研究对象是健康人群, 其恐惧记忆及消退记忆是在实验条件设定下形成的, 因此研究结果可能不足以代表患病人群。今后研究应扩展到临床患者, 以进一步验证



*ADRA1A* 基因对恐惧记忆及恐惧相关精神疾病的影响。

本研究的结果表明,单个 SNP 位点对于恐惧记忆及消退记忆可能仅发挥微效的调控作用。因而为了更深入地理解 *ADRA1A* 基因在调控恐惧记忆及消

退记忆过程中的作用,未来的研究可以进一步探讨 *ADRA1A* 基因中多个 SNP 位点间的交互作用,并利用转基因动物模型研究 *ADRA1A* 基因对恐惧记忆和消退记忆的调节作用,以期对恐惧记忆相关心理问题和精神疾病的预防和治疗提供新的理论依据。

#### 4 参考文献

- [1] Bouton ME, Mineka S, Barlow DH. A modern learning theory perspective on the etiology of panic disorder [J]. *Psychol Rev*, 2001, 108(1): 4-32.
- [2] LeDoux J. Rethinking the emotional brain [J]. *Neuron* 2012, 73(4): 653-676.
- [3] Maren S. Seeking a spotless mind: extinction, deconsolidation, and erasure of fear memory [J]. *Neuron* 2011, 70(5): 830-845.
- [4] Yehuda R, Hoge CW, McFarlane AC, et al. Post-traumatic stress disorder [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1: 15057.
- [5] Southwick SM, Bremner JD, Rasmusson A, et al. Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of posttraumatic stress disorder [J]. *Biol Psychiatry*, 1999, 46(9): 1192-1204.
- [6] Southwick SM, Krystal JH, Bremner JD, et al. Noradrenergic and serotonergic function in posttraumatic stress disorder [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 1997, 54(8): 749-758.
- [7] Goddard AW, Ball SG, Martinez J, et al. Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression [J]. *Depress Anxiety*, 2010, 27(4): 339-350.
- [8] Takeuchi Y. Noradrenergic System [M]//Volkmar FR, editor. *Encyclopedia of Autism Spectrum Disorders*. New York, NY: Springer New York, 2013: 2053-2058.
- [9] Buzas B, Belfer I, Hipp H, et al. Haplotype block and superblock structures of the alpha1-adrenergic receptor genes reveal echoes from the chromosomal past [J]. *Mol Genet Genomics*, 2004, 272(5): 519-529.
- [10] Solecki WB, Szklarczyk K, Klasa A, et al. Alpha1-adrenergic receptor blockade in the VTA modulates fear memories and stress responses [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2017, 27(8): 782-794.
- [11] Do Monte FH, Souza RR, Wong TT, et al. Systemic or intra-prelimbic cortex infusion of prazosin impairs fear memory reconsolidation [J]. *Behav Brain Res*, 2013, 244: 137-141.
- [12] Zhang X, Norton J, Carriere I, et al. Preliminary evidence for a role of the adrenergic nervous system in generalized anxiety disorder [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42676.
- [13] Zung WW. A self-rating depression scale [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 1965, 12: 63-70.
- [14] Zung WW. A rating instrument for anxiety disorders [J]. *Psychosomatics*, 1971, 12(6): 371-379.
- [15] Burriss L, Ayers E, Ginsberg J, et al. Learning and memory impairment in PTSD: relationship to depression [J]. *Depress Anxiety*, 2008, 25(2): 149-157.
- [16] Fu X, Lu Z, Wang Y, et al. A clinical research study of cognitive dysfunction and affective impairment after isolated brainstem stroke [J]. *Front Aging Neurosci*, 2017, 9: 400.
- [17] Liu J, Zhao L, Xue Y, et al. An unconditioned stimulus retrieval extinction procedure to prevent the return of fear memory [J]. *Biol Psychiatry*, 2014, 76(11): 895-901.
- [18] Ai SZ, Chen J, Liu JF, et al. Exposure to extinction-associated contextual tone during slow-wave sleep and wakefulness differentially modulates fear expression [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2015, 123: 159-167.
- [19] He J, Sun HQ, Li SX, et al. Effect of conditioned stimulus exposure during slow wave sleep on fear memory extinction in humans [J]. *Sleep*, 2015, 38(3): 423-431.
- [20] Lazzaro SC, Hou M, Cunha C, et al. Antagonism of lateral amygdala alpha1-adrenergic receptors facilitates fear conditioning and long-term potentiation [J]. *Learn Mem*, 2010, 17(10): 489-493.
- [21] Kakui N, Yokoyama F, Yamauchi M, et al. Anxiolytic-like profile of mirtazapine in rat conditioned fear stress model: Functional significance of 5-hydroxytryptamine 1A receptor and alpha1-adrenergic receptor [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2009, 92(3): 393-398.
- [22] Takeda H, Tsuji M, Miyamoto J, et al. Caffeic acid produces antidepressive- and/or anxiolytic-like effects through indirect modulation of the alpha1A-adrenoceptor system in mice [J]. *Neuroreport*, 2003, 14(7): 1067-1070.

收稿日期: 2018-04-16

修回日期: 2018-04-27