

焦慮症治療的一絲曙光-焦慮與杏仁核基因表現的關聯性

0712238 林彥彤

摘要:

來自布萊根婦女醫院(Brigham and Women's Hospital)的研究員們，使用了老鼠活體實驗的方式，發現一些杏仁核內的基因表現跟分子調控，可能與焦慮狀態有密切的關係，研究成果已刊登於Nature出版團隊在生物精神病學相關的期刊-Translational Psychiatry上。

提要:

美國有將近4000萬人有焦慮失調的情況。然而，近半個世紀內，對於焦慮的治療基本上處於停滯的階段，儘管療法存在，但是療程長度跟治療效果都因人而異，使用抗憂鬱藥物往往需要幾周甚至是幾個月才會開始發生效果；而使用苯二氮䓬類藥物(benzodiazepine)，雖然可以有效緩解症狀，但是由於該藥物的機理，很容易產生依賴性，長期使用會造成負擔。而研究發展上停滯如此之久很大的原因是缺乏有效的臨床前模型(例如:癌症的治療就能在培養皿上做初步的模擬)。

研究背景及目的:

於是在這樣的背景下，來自布萊根婦女醫院的團隊進行了一種基於活體老鼠的新實驗，希望藉由科學的方法，得到一些有益的結果能幫助焦慮症研究的進展，初步研究成果相當成功，找出了超過209種可能與焦慮症相關的基因。

方法:

該團隊採用了三種(註1)同基因型(isogenic)的老鼠品系(mouse strains)，測量它們的基礎"焦慮值"，發現其中C57/BL6品系在焦慮方面的表型(phenotypes)有較大的變異(此部分驗證了之前研究的結果-老鼠在不同品系跟同品系的焦慮表現都有顯著的不同)，因此採用此品系作為實驗的目標。進行"焦慮參數"的衡量，並將分成三組"焦慮程度"的老鼠。之後將老鼠的杏仁核取出(註2)，經過FastQC的數據有效性驗證，使用RNA library以及相關方法(bcbio-nextgenproject)進行檢體中基因表現程度的估計，使用PCA主成分分析得到對老鼠分群影響較大的基因表現，最後的結果再使用IPA, Cytoscape以及cMap analysis進行驗證。

註1: C57/BL6, DBA/2J and BALB/C

註2: 經過美國相關協會許可的neurosurgery，以較為人道的方式切除

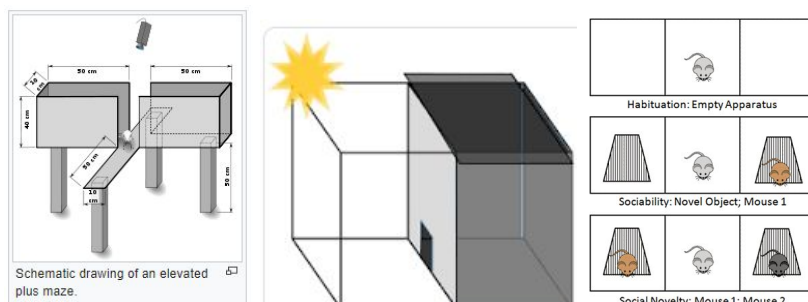
如何產生焦慮參數/量尺(anxiety metrics):

1.高架十字迷宮(Elevated Plus Maze)(左圖)

2.光暗室(Light/dark box)(中圖)

3.三室社交測試(Three-chamber social interaction)(右圖)

這三種測試方法是動物焦慮測試的常見實驗，有些具有些許爭議性(如光暗室)，但是都是可以使用的量尺。實驗使用的參數有像是EPM進入封閉區域的次數，單位時間內移動的距離(可想像人類焦慮時會來回踱步)，接觸其他老鼠的時間等等。詳細可參閱原論文，總共有12個量尺。



如何分成三組焦慮程度的老鼠:

分析焦慮參數中有雙峰(bimodal)傾向的數值(可以表示焦慮及非焦慮及中等狀態)，進行z-score標準化(註3)，以及避免掉一些高偏差(biased)的參數，在這樣的情況進行PCA主成分分析(註4)，找出PCA提供的兩項影響最大的因子，並進行驗證。確認結果有意義之後進行分群(clustering)。

註3:讓資料轉成接近於標準分布 $N(0,1)$ 的量，不懂統計學的話就可以把這個步驟看成不要讓原本數字很大的資料的影響蓋過數字小的影響，因為它們對於目標的貢獻不應該因為原本資料的數量級有所不同

註4:一種尋找高維度資料選取其中幾個維度降維後能保留最多資訊的矩陣方法或是類似的方法

結果:

實驗結果發現了幾種跟突觸可塑性(synaptic plasticity)相關的基因表現(NXPH3, NRG1, 及 NRXN2)與焦慮狀態呈現正相關。

NXPH3與調控興奮性突觸傳遞(excitatory synaptic transmission)有關；NRG1是與思覺失調症(schizophrenia, 前稱精神分裂症, 後來正名)風險相關且與FMRP(與記憶形成相關的蛋白質)有關聯的基因；NRXN2則跟決定突觸性狀有關，也是跟思覺失調症以及自閉症風險有關的基因。

研究團隊使用網路分析出這幾種基因的共同點-ESR1基因以及其所產生的蛋白-estrogen receptor α protein，而此蛋白是神經合成雌二醇(neurosteroid estradiol)的受體，而此化學物質被證實高度影響突觸的結構(synaptic structure)跟神經的可刺激性(neuronal excitability)。總之，這部份顯示這些基因與調控雌二醇相關的反應路徑有關，又經由突觸的物理結構跟神經的可刺激性與焦慮狀態相關。

雌二醇也會調控其他賀爾蒙，例如泌乳素(prolactin)。在實驗中，高壓會導致老鼠杏仁核中泌乳素的負調控(downregulation)，然而過去的實驗中泌乳素在焦慮狀況下，腦下垂體會正調控其分泌量。現在對於其與焦慮的交互作用仍是不確定的，有種假說是：此神經肽(泌乳素)在生產期間的作用是抗焦慮劑，用於調控腦中內分泌腺產生的生產焦慮。研究人員表示，然而本實驗中不採用懷孕老鼠，故在不同性別跟懷孕狀態下重複此實驗是必須的，並且也許可以對不同性別對於壓力的生理反應有更進一步的了解。

另外一個重大發現是，ADGRL4-一種G蛋白偶聯受體(G-protein coupled receptor, abbreviated as GPCR)，在焦慮老鼠中有明顯的增加，有趣的是，此受體曾被發現會對雌二醇反應，之前認為此受體跟血管新生(angiogenesis)相關，但還未有任何研究顯示其與焦慮狀態的關係，本研究顯示ADGRL4可能與急性焦慮的調節有關，團隊建議未來的研究可以著重於ADGRL4在杏仁核內的反應機理。

目前，此研究為檢測高度焦慮老鼠提供了幾項試驗標準。而在未來，在杏仁核這塊區域中研究這些基因以及其相關蛋白的運作機理，將有可能讓我們對於焦慮狀態的運作機制有很進一步的了解。也建議未來的團隊可以對焦慮相關的基因在其他腦區進行類似的分析與研究，也許會有更多其他的發現。

結論：

我們可以看到，這篇論文的概念十分清楚易懂，實作上以及細節上的處理得很好，確保實驗所產生出的數據跟結果具有相當的可信度，且結合分子生物學、統計學、數據分析等等方法，在大腦認知科學相關的主題-焦慮症上，產生近50年來突破性的進展。實驗結果發現了許多我們以往不知道的"焦慮基因"存在的可能性，對於大腦內的分子級的運作，以及未來藥物的設計等研究提供了嶄新的方向。也許有一天，在現代越來越忙碌且高壓的社會裡，人們可以不用再擔心焦慮症所帶來的強烈精神負擔，提升整體的工作/學習表現，以及維持良好的社交運作。而最近的研究也不斷揭示，不同的分子在不同的區塊可能會擔當截然不同的腳色，也許對於焦慮基因表現及其蛋白的相關研究，可以對我們理解人腦運作的模式有更多劃時代的進展。

關鍵詞：

焦慮症, 杏仁核, 分子生物學, 基因表現, 老鼠實驗, 統計學, PCA, 主成分分析, 雌二醇, 內分泌, 泌乳素, G蛋白偶聯受體 etc.

原始論文：

Goldman, A., Smalley, J.L., Mistry, M. et al. A computationally inspired in-vivo approach identifies a link between amygdalar transcriptional heterogeneity, socialization and anxiety. Transl Psychiatry 9, 336 (2019) doi:10.1038/s41398-019-0677-1
<https://www.nature.com/articles/s41398-019-0677-1>

新聞來源：

Science Daily, December 18, 2019: Molecular features of anxiety in the brain
<https://www.sciencedaily.com/releases/2019/12/191218153427.htm>

其他相關連結：

<https://www.google.com/search?q=>

基因表型：

<https://en.wikipedia.org/wiki/Phenotype>

實驗:

https://en.wikipedia.org/wiki/Elevated_plus_maze

https://en.wikipedia.org/wiki/Light-dark_box_test

<https://med.stanford.edu/sbfnl/services/bm/si/three-chamber.html>

分子:

https://en.wikipedia.org/wiki/Synaptic_plasticity

https://en.wikipedia.org/wiki/G_protein-coupled_receptor

方法:

PCA: https://en.wikipedia.org/wiki/Principal_component_analysis

FAST QC: <https://bcbionextgen.readthedocs.org/en/latest/>

bcbio-nextgenproject: <https://bcbionextgen.readthedocs.org/en/latest/>