

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月6日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18632

研究課題名(和文)危険予期と適応行動選択におけるセロトニン関連遺伝子の影響

研究課題名(英文)The effect of 5-HTTLPR to risk anticipation and adaptive behavior.

## 研究代表者

西村 碧(本井碧)(NISHIMURA, Midori)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員

研究者番号：90761049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：5-HTTLPRには、short(s)型とlong(l)型の2つの対立遺伝子がある。l型はs型よりも高いストレス耐性があるとされてきたが、一方で情動反応に対する効果は議論の途上であった。本研究はこの遺伝子多型の適応的意義を明らかにすることを目的とした。42人の男性学生を被験者として500msの注視点、2000msのCue刺激、3500msの情動画像を呈示した。予期可能条件では情動画像に対応するCue刺激が呈示された。l型の被験者は予期可能な不快画像に対して有意に大きいLPP振幅を示した。従ってl型は予想可能時に注意バイアスがあり、リスク回避策は5-HTTLPRによって異なる可能性が示唆された。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

5-HTTLPRは情動反応や社会的な認知に関与するとされていたが、その効果については文化的環境との相互作用等の要因からの検討が必要であった。sアレルは東アジア集団、特に日本に多く、過覚醒な反応が危険回避において適応的意義があったことが示唆されているが、実験的には明らかになっていなかった。本研究によりsタイプは未知の危険に対して、lタイプは既知の危険に対しての注意反応が異なり、それぞれの遺伝子タイプによって危機回避の方策が異なる可能性が示唆された。この成果は遺伝子多型によるストレス耐性の違いなどを明らかにすることにつながる。

研究成果の概要(英文)：The functional polymorphism (5-HTTLPR) has two alleles: the Short (s) type and the Long (l) type. The l allele of 5-HTTLPR is considered to be associated with higher stress tolerance than s allele. On the other hand, effects for affective response from 5-HTTLPR are controversial. We aimed to specify the adaptive significance of this genetic variation. The subjects were 42 male students (19-23 years old). Subjects were presented the gaze point for 500 ms, the cue for 2000 ms, and the emotional image for 3500 ms. In the Affective Cue conditions, the cue stimulus indicated the affective valence of the image. In the Null Cue condition, the cue stimulus did not indicate any affective valence. Participants with l allele(s) showed significantly larger LPP amplitude to unpleasant picture in affective cue condition. This result showed that participants with the l allele had attention bias from anticipation. It suggested that measures for avoiding risk may be different depending on 5-HTTLPR.

研究分野：生理人類学、生理心理学

キーワード：事象関連電位 セロトニントランスポーター 遺伝子多型 注意 実験心理学

### 1. 研究開始当初の背景

セロトニンが感情との関わりの深い物質であることから、5-HTTLPR 多型と情動が伴う事象、特に不快な事象に対する脳活動との関連について調査されており、不快刺激呈示時の扁桃体及びその周囲の活動と5-HTTLPR 多型には関連があることが明らかになってきた多くの先行研究においても、不快刺激に対する注意と5-HTTLPR の関係が示唆されており、上記の結果を補佐した。これらの研究では、ss 型の個体における不快刺激に対する過覚醒な反応が、うつ病や感情障害等の脆弱性を上げると考察しており、負の側面が強調されている。

危機回避において、生理学的知見からも不快な事象の予期が重要な要素となることから、5-HTTLPR 多型が予期の認知過程に与える影響について脳活動に着目することで研究されてきた。予期の認知過程は2つの刺激を用いるS1-S2パラダイムタスクがしばしば用いられている。これは警告刺激となるS1が情動刺激となるS2の種類を示唆するタスクであり、被験者はS1によりS2を予期できるようになっており、通常被験者にはS2刺激に対し、ボタン押しといった運動反応を要求する。このS1とS2のインターバルに発生する電位が随伴性陰性電位(CNV)である。S2刺激に対し、運動反応がない場合のCNVは予期の認知過程だけを反映すると報告されており、この後期の成分を刺激先行陰性電位(Stimulus preceding negativity:SPN)と呼ぶ(Brunia et al.,1988)。SPNは嫌悪刺激やKR刺激(過去のパフォーマンスの結果を教えてくれる刺激)といった動機付けと関連のある刺激を予期した際生じることから、SPNは将来提示される刺激に対する準備、予期の活動を反映すると考えられている。

予期していた事象に対する反応では、予期可能条件下で、感情価がある刺激(覚醒度が高い刺激)を提示した場合、予期不可能条件下で感情価がある刺激(覚醒度が低い刺激)を提示させた場合と比べ、LPP(Late Positive Potential)振幅が大きくなった(Huiyan et al., 2012)。LPPは刺激提示後300~800ms後に、振幅が中心から後頭にかけて最大となる陽性成分で情動刺激への覚醒度を反映する(Olofsson et al.,2008)。

### 2. 研究の目的

ss 型の個体における不快刺激に対する過覚醒な反応が、うつ病や感情障害等の脆弱性を上げることから、ss 型の負の側面が強調されている。しかし近年日本人のss 型は、表情といった非言語刺激を重視する文化的背景によって育まれた、社会的な危機回避に優れていることが示唆されている。さらにs アレルの持つ刺激へ過覚醒な反応は、捕食者からの逃避や社会的なサポート、報酬を得るために過去には有利であったことが示唆されていることから、文化による作用がなくともss 型の個人は危機回避といった正の側面を持つ可能性がある。従ってss 型の個人において社会的要素が伴わない刺激に対しても危機回避に寄与する認知傾向が生じると予想される。さらに危機回避を行う上で、不快な事象の予期が重要な要素となることから、予期の認知過程と5-HTTLPR 多型は関連があると考えられる。そこで本研究では、予期の認知過程に着目し、予期の認知過程と5-HTTLPR 多型の関連について明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

健康な男子大学生及び大学院生42名(23.5±1.2歳)を対象とした。被験者は実験の目的と内容について説明を受けた後、同意書に署名し、灰色のTシャツに着替えた。この実験は倫理委員会の承認を受けた。

本研究では情動刺激である不快刺激、快刺激、中立刺激の3条件の画像をそれぞれ60種類、International Affective Picture System images(IAPS)から用いた。また不快刺激の覚醒度と快刺激の覚醒度に有意差がないようそれぞれIAPSに付属のデータベースに基づき選定した。

実験室内の温度26°C、相対湿度は50%とした。被験者は楽な姿勢で椅子に座り、椅子から1.5m離れたテレビ(Sony Co.)のスクリーン(21inch)を見るように指示された。実験室内の被験者の視界に入る場所には色のついた物や誘目性の高い物は置かなかった。

本研究では、S1-S2パラダイムタスクを用いた。被験者は注視点を500ms間、警告刺激(S1)を2000ms間、グレー画面を1000ms間、情動刺激(S2)を3500ms間見た後、情動刺激に関する評価をした(図1)。情動刺激提示終了後、情動画像について主観評価を行った。Cue刺激には丸、三角形、四角形、五角形の4種類の図形刺激、情動刺激では不快、快、中立の3条件の刺激を用いた。予期可能条件では情動刺激の感情価によってそれぞれ異なる図形を対応させた。予期不可能条件は単一のCue刺激の後にランダムに情動刺激が提示された。また各々が持つ図形の性質に

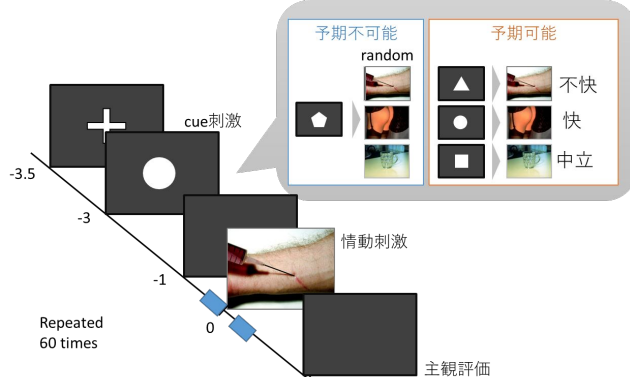


図1. 画像刺激の呈示方法

よる影響をなくすため、図形と情動刺激の組み合わせはカウンターバランスをとった。被験者には、警告刺激が提示されてか

らの3秒間で情動刺激の感情価を予期した状態、もしくは予期していない状態で、情動刺激を観察してもらうよう教示した。以上を1試行とし、各条件につき60試行、計300回繰り返した。注視点が提示されてから、情動刺激が提示し終わるまでERPを計測した。本実験では、Self Assessment Manikin法(Lang.,1980)を用いて、情動刺激の情動価と覚醒度について1-9段階で主観評価を行った。

脳波はpolymate Ap2016(株式会社デジテック研究所)を用いて測定した。測定部位はFz、Cz、Pzとした。リファレンスは国際10-20法で定められたFzとCz部位の中心部とした。電極の抵抗は実験中10kΩ以下に保ち、0.008-100Hz bandpass ハードウェアフィルターを用いサンプリング周波数500Hzで連続的に記録した。

分析には、EMSE-data editor version 5.5.1を使用した。その際、遮断周波数(Cutoffs)の最大(High end)を20Hzに設定した。その後、±60μVを超えるアーチファクトを含む試行を取り除き、残りの試行に対して情動画像刺激呈示を0msとして-3200ms~3500msの範囲を加算平均し、ERP波形を得た。その際、SPNにおいて-1200ms~-1000ms、LPPにおいて-200ms~0msまでの平均値を全体波形から引いた。予告刺激呈示の200ms前から0msのFz部位における平均電位を算出し、予期不可能条件と可能条件の差を刺激先行陰性電位(SPN)として分析した。情動画像の呈示から400msと1000msの間のPz部位における電位の平均値を後期陽性電位(LPP)振幅として分析した。

実験前に被験者から唾液を採取した。DNAはSaliva DNA Isolation Kit(NORGEN, Canada)を使用して抽出した。抽出後PCR増幅をThermal cycler GeneAtlas E(ASTECC, Fukuoka, Japan)によって行った。P反応液はテンプレートDNAを5μl、Prime STAR MAX DNA Polymerase(TAKARA BIO, Ohtsu, Shiga, Japan)を25μl、各プライマーを1.25μl含む。プライマーはHeilsら(1996)に従った。PCR増幅後の生成物は3%のアガロースゲルを用いて40分間100Vで電気泳動し、エチジウムブロマイド溶液で染色した。512bpを1アレル、469bpをsアレルとした。アレル頻度はHardy-Weinberg equilibriumからの有意な逸脱はなかった。

本研究ではss型の被験者24名、sl型の被験者12名、ll型の被験者4名を解析対象として扱った。またss型の被験者sグループ24名、sl, ll型の被験者Lグループ16名に分けた。主観評価、SPN、LPPを応答変数とした一般化線形混合モデル(GLMM)による統計解析を行った。Gaussian分布、link関数はidentityが選択された。説明変数を予期(可能・不可能)、情動刺激(中立・不快・快)、遺伝子タイプ(1・s)とその交互作用とし、被験者個人を変量効果として扱った。使用した統計ソフトはR software version 3.4.2 via RStudio version 1.1.383であった。GLMMにはlme4パッケージ(Douglas B et al.,2015)を用い、多重比較にmultcompパッケージ(Hothorn Tet al.,2016)を使用した。p<0.05を有意とした

#### 4. 研究成果

##### 主観評価

快-不快、覚醒-鎮静のどちらの主観評価においても情動刺激の主効果のみが有意であり(p<0.001)、遺伝子タイプによる主効果及び交互作用はなかった(図2)。

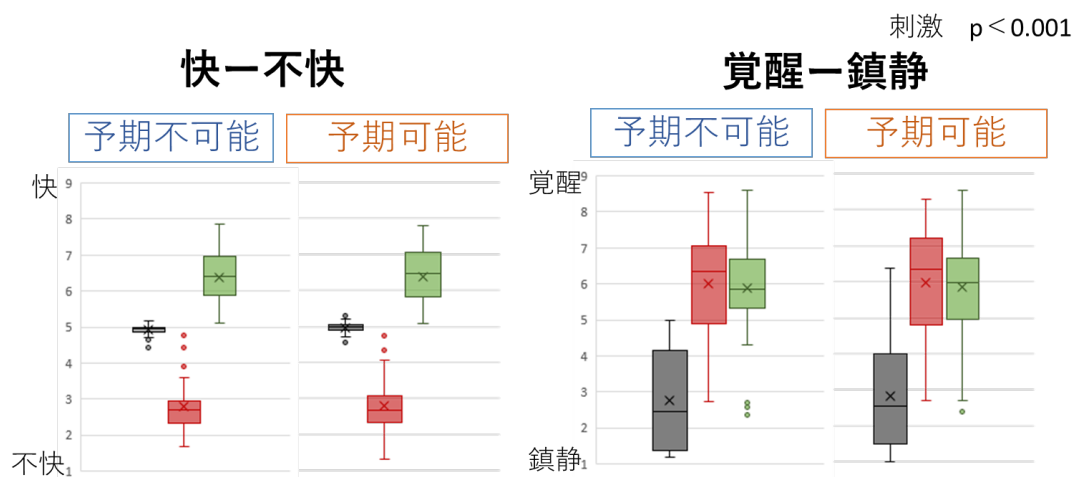


図2. 主観評価

SPNについてはいずれの主効果も交互作用も認められなかった(図3)。

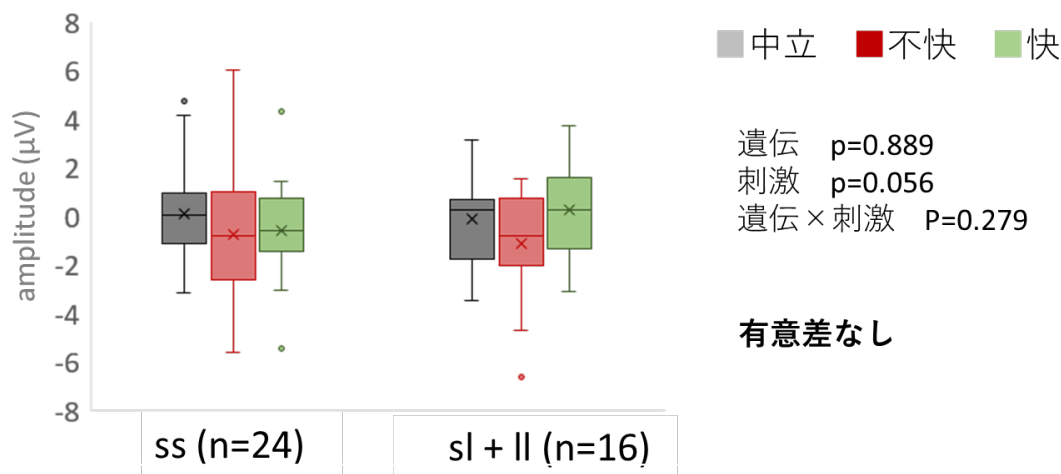


図 3. SPN

LPP については予期の要因の主効果があった ( $p=0.015$ )。予期、刺激、遺伝子の三要因の交互作用があった ( $p=0.045$ )。下位検定の結果、L タイプは予期できる場合にのみ中立刺激よりも不快刺激に対して LPP が大きかった ( $p<0.001$ )。一方で S タイプは予期できないとき中立刺激よりも不快刺激に対して LPP を増大させた ( $p<0.001$ )。快情動に対しては予期の有無や遺伝子タイプの差はなかった (図 4)。

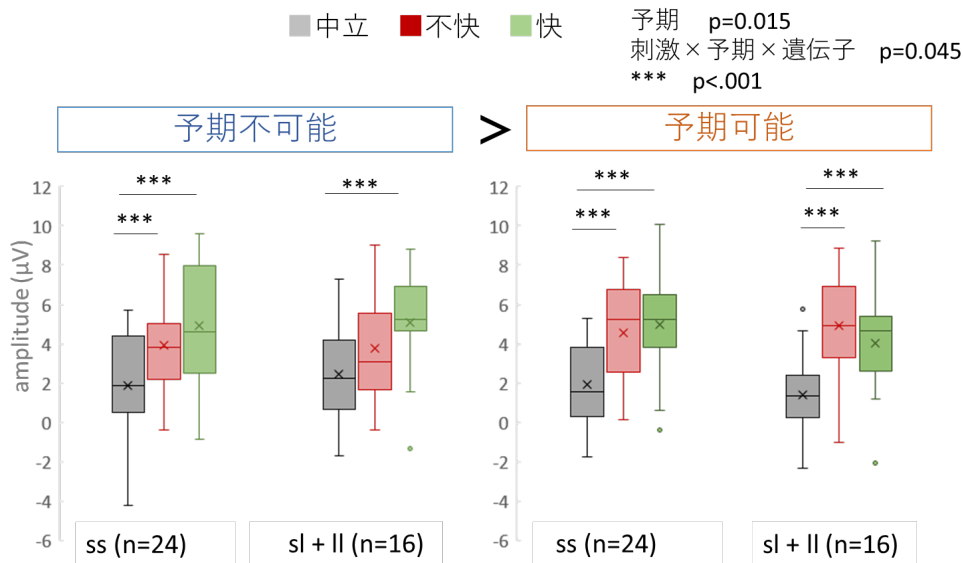


図 4. LPP

主観評価については画像刺激を用いた先行研究でも主観評価と 5-HTTLPR 多型に関連がないという結果が複数報告されている (Firk et al., 2012)。

SPN は将来提示される刺激に対する準備、予期の活動を反映すると考えられている。本研究の結果は、SPN は覚醒度が高い刺激の予期により振幅が大きくなるという先行研究 (Poli et al., 2007) と一致しなかった。本実験の被験者においては予期した情動に関わらず同等の注意を払ったと考えられる。

ss 型の個人は、表情などの非言語刺激を重視する文化的背景によって育まれた、社会的な危機回避に寄与する認知傾向を示す (Ishi et al., 2014)。さらに古来、s アレルの持つ刺激への過覚醒な反応は、捕食者からの逃避や社会的なサポート、報酬を得るために過去には有利であったことから (Homberg & Lesch, 2011)、ss 型の個人において社会的要素が伴わない刺激に対しても危機回避に寄与する認知傾向が生じる、つまり危機回避の観点からすると適応的であると想定していた。そして適応的な反応をとるため、将来提示される不快刺激に対し準備を行い、SPN 振幅が大きくなると想定していた。本研究の結果は仮説とは一致しなかった。

LPP については、ss タイプは予期の有無にかかわらず不快刺激において増大させた。これは過覚醒な反応を示す先行研究を支持するものである。一方で L タイプは予期時にのみ不快刺激に対して LPP を増大させた。予告を伴う刺激に対する LPP の増大は、先行研究では記憶の過程での画像のコード化を強化し得ることが示唆されている (Huiyan et al., 2012)。このことから、1 アレルの被験者のみが予期によって不快刺激の記憶に関わる情報処理を亢進させている可能性

が示唆された。

本研究には複数の限界がある。すなわち被験者数が少ないことにより、検出力が低いことと、被験者を2群に分けた分析を行っている点である。

本研究では、5-HTTLPR多型が予期の認知過程に与える影響を明らかにすることを目的とした。結果、s型の被験者において、予期はSPN振幅、LPP振幅に影響を与えなかった。つまりs型は予期による影響を受けないと考えられる。対照的にlアレルを持つ被験者群において、不快刺激の予期はLPP振幅に影響を与えた。つまりlアレルを持つ被験者は不快刺激に対する覚醒度を上げ、画像の記憶に関する処理を優先的に行ったと考えられる。

本研究によりSタイプは未知の危険に対して、Lタイプは既知の危険に対しての注意反応が異なり、それぞれの遺伝子タイプによって危機回避の方策が異なる可能性が示唆された。

#### <引用文献>

- Brinia C et al, Movement and stimulus preceding negativity, *Biological Psychology* 1988, 26:165-178
- Canli T et al, Neural correlates of epigenesis, *This issue* 2006, 103:16033-16038
- Cornelia M et al, Amygdala response to anticipation of dyspnea is modulated by 5-HTTLPR genotype, *Psychophysiology* 2015, 52:973-976
- Douglas B, Martin M, Ben B, Steve W. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 2015, 67(1): 1-48.
- Frik et al, Serotonin transporter genotype modulates cognitive reappraisal of negative emotions: a functional magnetic resonance imaging study, *Affect. Neurosci.* 2012, 8:247-258
- Hothorn T, et al. Package 'multcomp'. Simultaneous inference in general parametric models. Project for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016.
- Homberg R et al, Looking on the Bright Side of Serotonin Transporter Gene Variation, *Biological Psychiatry* 2011, 69:513-519
- Huiyan L et al, Expectation enhances event-related responses to affective stimuli, *Neuroscience Letters* 2012, 522:123-127
- Ishii K et al, Culture modulates sensitivity to the disappearance of facial expressions associated with serotonin transporter polymorphism (5-HTTLPR), *Culture and Brain* 2014, 2:72-88
- Olofsson J et al, Affective picture processing: An integrative review of ERP findings, *Biological Psychology* 2008, 77:247-265
- Poli S et al, Stimulus-Preceding Negativity and heart rate changes in anticipation of affective pictures, *International Journal of Psychophysiology* 2007, 65:32-39

#### 5 . 主な発表論文等

##### [雑誌論文](計3件)

- Y Yasukochi, T Nishimura, M Motoi, S Watanuki: Association of EGLN1 genetic polymorphisms with SpO2 responses to acute hypobaric hypoxia in a Japanese cohort. *Journal of physiological anthropology*, 査読あり, 2018 37(1) 9. doi: 10.1186/s40101-018-0169-7.
- T Nishimura, T Katsumura, M Motoi, H Oota, S Watanuki: Experimental evidence reveals the UCP1 genotype changes the oxygen consumption attributed to non-shivering thermogenesis in humans. *Scientific reports*, 査読あり, 2017,7(1) 5570. doi: 10.1038/s41598-017-05766-3
- M Motoi, T Nishimura, Y Egashira, F Kishida, S Watanuki: Relationship between mitochondrial haplogroup and physiological responses to hypobaric hypoxia. *Journal of physiological anthropology*, 査読あり, 2016, 35:12. doi: 10.1186/s40101-016-0094-6

##### [学会発表](計5件)

- Motoi M, Kishida F, Watanuki S: The relationship between 5-HTTLPR and Event-related Potentials (ERPs) during picture processing in anticipation task. *Russian-Japanese Scientific Symposium*, 2018.12, Moscow, Russia
- 本井碧, 岸田文, 綿貫茂喜: 情動予期時の事象関連電位とセロトニントランスポーター遺伝子多型の関連. *日本生理人類学会第78回大会*, 2018.10, 東京
- Motoi M, Kishida F, Watanuki S: The Relationship Between 5-HTTLPR and Event-Related Potential (ERP) During Anticipation of Affective Picture. *International Symposium on physiological Anthropology*, 2018.10, Sabah, Malasia
- Motoi M, Kishida F, Egashira Y, Minote N, Watanuki S: The relationship between 5-HTTLPR and Event-related Potentials(ERPs) during affective picture processing of different objects. *Conference of "Modernization and Health in the Asia-Pacific Region"* 2016.08, Hawaii, America
- 本井碧, 黒田知宏, 岸田文, 西村貴孝, 綿貫茂喜: 低酸素環境下における事象関連電位とミトコンドリアDNAハプロタイプの関連. *日本生理人類学会第73回大会*, 2016.6, 大阪

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。