论文

睡眠剥夺影响恐惧记忆巩固的认知神经机制: 静息态低频波动振幅分析

冯攀^{1,2}, 靳玉乐³, 郑涌^{1,2}, 冯廷勇^{1,2*}

1. 西南大学心理学部, 重庆 400715;

2. 西南大学认知与人格教育部重点实验室, 重庆 400715;

3. 西南大学教育学部, 重庆 400715

* 联系人, E-mail: fengty0@swu.edu.cn

收稿日期: 2018-05-21; 接受日期: 2018-06-12; 网络版发表日期: 2018-08-21

国家自然科学基金(批准号: 31571128)、中国博士后科学基金(批准号: 2017M612880)、重庆博士后科研项目(批准号: Xm2017161)和中央高校基本科研业务费专项资金(批准号: SWU1509392, SWU1709376)资助

摘要 恐惧是人类的基本情绪, 在人类生存和适应中发挥着重要的作用. 先前的研究表明, 睡眠剥夺会对恐惧记忆巩固过程产生影响, 然而睡眠剥夺影响恐惧记忆巩固的认知神经机制并不清楚. 为此, 本研究采用了功能性磁共振技术探究睡眠剥夺影响恐惧记忆巩固的认知神经基础. 行为结果发现, 相对于控制组, 睡眠剥夺组在恐惧习得过程中有更大的主观恐惧和皮肤电反应; 脑成像结果发现, 恐惧记忆巩固中, 睡眠剥夺组增强了杏仁核的活动, 减弱了腹内侧前额叶的活动; 进一步的相关分析表明, 睡眠剥夺组杏仁核活动变化程度与个体恐惧习得效果呈现显著的正相关, 而控制组腹内侧前额叶活动变化程度与个体恐惧习得效果呈现显著的正相关. 这些结果表明, 睡眠剥夺可能削弱了恐惧记忆巩固过程中腹内侧前额叶对杏仁核自上而下的调节能力.

关键词 恐惧, 睡眠剥夺, 记忆巩固, 杏仁核, 腹内侧前额叶, 功能性磁共振技术

恐惧(fear)是一种基本的情绪, 它是人类在面临环境威胁时的适应性反应, 它在人类生存和适应中发挥着重要的作用. 然而, 当动物或人类长期处于恐惧状态中, 可能发展为焦虑症、恐惧症和创伤后应激障碍(posttraumatic stress disorder, PTSD)等精神疾病, 对其身心健康和发展都会造成严重的负面影响. 条件性恐惧模型是PTSD等精神疾病典型动物模型. 条件性恐惧过程分为恐惧习得(fear acquisition)、恐惧记忆巩固(fear memory consolidation)、恐惧记忆再巩固(fear memory consolidation)、恐惧消退(fear extinction)等过

程^[1-3]. 恐惧习得以巴甫洛夫的条件性恐惧习得为基础, 对动物或人类进行无条件刺激(unconditioned stimulus, US, 如电击)与中性刺激(conditioned stimulus, CS, 如几何图形或声音)的匹配训练, 训练后当动物或人类再次接触这个中性刺激CS时就会表现条件性恐惧反应; 条件性恐惧习得后, 即使动物或人类处于睡眠或者休息状况下, 恐惧记忆也处于巩固中; 当对记忆进行唤醒后(再次给予动物或者人类一次CS), 睡眠和休息状态下, 恐惧记忆又会进行再巩固; 然而, 在恐惧记忆再巩固窗口中, 如果条件刺激CS单独呈现而不匹配

引用格式: 冯攀, 靳玉乐, 郑涌, 等. 睡眠剥夺影响恐惧记忆巩固的认知神经机制: 静息态低频波动振幅分析. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 1115–1125
Feng P, Jin Y L, Zheng Y, et al. Neural mechanisms underlying fear memory consolidation influenced by sleep deprivation using the fraction amplitude of low-frequency fluctuations as marker (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2018, 48: 1115–1125, doi: [10.1360/N052017-00281](https://doi.org/10.1360/N052017-00281)

厌恶刺激时, 那么动物或人类先前习得的条件性恐惧反应会逐渐消退^[4-14]。研究表明, 条件性恐惧学习在焦虑症、恐惧症和 PTSD等相关情绪障碍的发展中发挥着重要作用, 尤其是异常的条件性恐惧习得过程和异常的恐惧记忆巩固过程与PTSD等密切相关。因此, 过度巩固创伤经验和缺乏睡眠对焦虑症、恐惧症和 PTSD的形成具有直接的作用^[15]。

动物模型和人类研究表明, 杏仁核、脑岛、前扣带回和海马是条件性恐惧习得的神经基础^[16-21]。杏仁核和腹内侧前额叶在恐惧记忆再巩固过程中发挥着重要作用^[12,13]。同时恐惧消退的神经环路包括杏仁核、海马、腹内侧前额叶和背外侧前扣带回^[22-24]。条件性恐惧习得后, 恐惧记忆巩固涉及以下脑区: 杏仁核 (amygdala)、腹内侧前额叶 (ventromedial prefrontal cortex, vmPFC)、背内侧前额叶 (dorsomedial prefrontal cortex, dmPFC)、背侧前扣带回 (dorsal anterior cingulate cortex, dACC) 和内侧前额叶 (medial prefrontal cortex, mPFC)。具体而言, van Marle等人^[25]的研究发现, 在经历中等程度的心理压力后, 杏仁核与背外侧前扣带回、杏仁核与脑岛间的静息态功能连接强度增强; Schultz等人^[26]的研究也发现, 恐惧记忆巩固过程中, 杏仁核与背内侧前额叶间的功能连接增强; 同时, 恐惧记忆巩固过程中, vmPFC和前扣带回 (anterior cingulate cortex, ACC) 等脑区的活动增强, 而纹状体 (striatum) 区域的活动减弱^[10], 杏仁核与dACC、海马 (Hippocampus) 与脑岛 (insula) 间的功能连接显著增强, 而杏仁核与mPFC间的功能连接则显著减弱^[11]。脑与行为关系的分析表明, vmPFC活动变化程度与个体恐惧习得效果呈现显著的正相关^[10], 而杏仁核与mPFC功能连接的变化程度能够预测个体习得后的主观恐惧水平^[11]。Schultz^[27]也发现, 条件性恐惧习得24 h后, 杏仁核与海马、杏仁核与内侧前额叶的功能连接增强。

睡眠以及睡眠剥夺与条件性恐惧习得和巩固过程密切相关^[5], 睡眠剥夺会引起杏仁核、内侧前额叶和腹内侧前额叶异常活动及其它们间功能连接的异常。具体说来, 面对情绪性刺激时, 睡眠剥夺增强了杏仁核的活动, 同时也减弱了杏仁核和腹内侧前额叶的功能连接强度^[28]; 另一项研究中, van der Helm等人^[29]的研究发现, 睡眠缺乏导致更消极的行为反应和更强的杏仁核活动, 同时睡眠缺乏减弱了杏仁核与内侧前额叶功能连接强度。早期的一项功能性磁共振技术 (func-

tional magnetic resonance imaging, fMRI) 研究发现, 睡眠剥夺减弱了全脑的能量代谢, 在vmPFC中表现尤其突出^[30], 而vmPFC在恐惧记忆巩固和情绪调节中发挥着重要作用^[11,16]。而且, 新近的一项研究发现, 睡眠剥夺抑制了杏仁核和腹内侧前额叶功能连接的增加, 与此同时, 杏仁核和脑岛的功能连接增加; 而睡眠剥夺后, 杏仁核与脑岛功能连接的变化程度与恐惧习得过程中恐惧水平呈现显著的正相关。研究结果表明, 睡眠剥夺可能抑制了腹内侧前额叶对杏仁核自上而下的调节作用^[31]。这些证据支持杏仁核和腹内侧前额叶对睡眠剥夺尤其敏感, 而且其在情绪变化中发挥着重要作用。然而, 睡眠剥夺如何影响恐惧习得过程中生理和心理的反应以及睡眠剥夺影响随后恐惧记忆巩固的神经机制并不清楚, 尤其是睡眠剥夺如何影响大脑某个区域的自发活动更不清楚。而且恐惧习得过程中生理 (皮肤电指数) 和心理的反应 (主观恐惧) 影响随后恐惧记忆巩固的神经机制仍然不清楚。因此, 本研究采用行为和静息态磁共振技术 (rs-fMRI) 探究了睡眠剥夺影响条件性恐惧习得认知机制和记忆巩固的神经机制。

大脑有研究发现, 后扣带回 (posterior cingulate cortex, PCC), mPFC的fALFF (fraction amplitude of low-frequency fluctuation) 值较ALFF (amplitude of low-frequency fluctuation) 值更高, 而脑脊液fALFF值较ALFF值更低, 结果表明fALFF对大脑的神经活动更为敏感, 而且fALFF可以提高检测自发大脑活动的敏感性和特异性^[32]。静息态磁共振技术是研究大脑自发活动的最好工具之一^[33-35], 而比率低频振幅是反应大脑自发活动的良好指标。因此, 本研究采用静息态磁共振技术, 以fALFF为指标, 来探讨了睡眠剥夺影响恐惧记忆巩固的神经基础。基于睡眠剥夺或睡眠不足影响情绪加工的相关研究^[28,29], 本研究预期睡眠剥夺组被试在恐惧习得过程中有更强的主观恐惧和生理反应; 而且, 恐惧记忆巩固中, 睡眠剥夺会增强杏仁核的活动, 而减弱了腹内侧前额叶的活动; 睡眠剥夺组被试杏仁核的活动可能与个体恐惧习得效果相关, 而控制组被试腹内侧前额叶的活动可能与个体恐惧习得效果相关。

1 材料与方法

1.1 被试

70名来自某高校的在校大学生, 其中控制组35人

(男19名, 女16名), $\bar{x}$ 为20.93岁, SD为1.59岁; 睡眠剥夺组35人(男24名, 女11名), $\bar{x}$ 为21.89岁, SD为1.97岁. 所有被试均为右利手, 身心健康, 视力或矫正视力正常, 志愿参加本实验. 实验结束后, 根据每个被试在实验中的表现给予相应的报酬. 两周睡眠日记作为睡眠习惯的评估指标, 所有被试均有良好的睡眠习惯(每晚有大于8 h睡眠, 每晚睡眠不晚于00:00 AM, 起床时间也不晚于8:00 AM). 所有被试在参加实验前一个月内均无倒时差经历, 同时所有被试在实验前72 h和整个实验过程中禁止引用咖啡和酒精等刺激性饮料; 避免剧烈身体运动, 紧张的精神活动等. 对于睡眠剥夺组被试, 需经历累积24 h的睡眠剥夺(第一天早上8:00到第二天8:00), 而所有控制组被试第一天晚上在家里正常睡眠, 且均报告不晚于00:00 AM睡觉, 第二天不晚于8:00 AM起床, 也有良好的睡眠质量. 排除了16名未成功习得恐惧的被试(6名控制被试和10名睡眠剥夺组被试), 因此共有54名被试进入行为分析中(29名控制组被试和25名睡眠剥夺组被试); 同时排除了在任务态扫描中头动大于2 mm或2度的被试8名(3名控制被试和5名睡眠剥夺组被试), 排除4名睡眠剥夺组扫描过程中睡着的被试, 因此共有42名被试进入脑成像分析中(26名控制组被试和16名睡眠剥夺组被试); 另有2名睡眠剥夺组被试在相关分析中是极端值(3个SD之外), 因此共有40名被试进入相关分析中(26名控制组被试和14名睡眠剥夺组被试).

1.2 实验材料

以黄、绿和蓝3种方块作为条件刺激(CSa+, CSb+, CS-). 为了排除颜色效应, 其3种颜色方块作为条件刺激的类型(CSa+, CSb+, CS-)在被试间进行了平衡. 有无电击作为非条件刺激(unconditioned stimulus, US)和中性刺激. 每个被试有一个最合适的电击强度, 其电击强度在实验前对每个被试进行了测量, 被试明显感觉到不舒服但不疼的电击强度就作为整个实验过程中的非条件刺激US^[8,9,36].

1.3 恐惧习得和恐惧记忆巩固任务

本研究有两组被试: 睡眠剥夺组和控制组, 对于睡眠剥夺组被试, 第一天早上8:00到达实验室, 经历24 h的睡眠剥夺后, 第二天早上8:00进行条件性恐惧习得任务和fMRI扫描(静息态1和静息态2); 而控制组被试

在正常睡眠后再进行条件性恐惧习得任务和fMRI扫描(静息态1和静息态2).

具体程序如下: 整个任务分为两个阶段(恐惧习得和恐惧记忆巩固)进行, 每个被试在进行条件性恐惧习得任务前, 对其进行8 min的静息态扫描(Rest1), 作为基线静息态baseline, 恐惧习得任务结束后, 立即对每个被试进行8 min的静息态扫描(Rest2), 以此静息态作为恐惧记忆的巩固过程^[10,11,26]. 运用经典条件反射范式完成对恐惧的习得任务^[8,9]. 条件刺激为黄、蓝和绿色方块(CSa+, CSb+, CS-), US为电击. 对CSa+和CSb+实施43.75%的部分强化, 即有43.75%的CSa+和CSb+伴随着电击shock (而56.25%的CSa+和CSb+未跟着电击), 电击在条件性刺激呈现3.8~4 s时间窗口内呈现, 电击持续时间为200 ms), 而CS-后至始至终未跟着电击. 条件化恐惧习得阶段, 共有两个部分, 每个部分共呈现9个CSa+, CSb+和CS-, 还有分别7个CSa+和CSb+伴随着电击, 以随机条件呈现, 两个条件性刺激的随机间隔ITI为6, 8和10 s (共呈现18个不带电击的CSa+, 18个不带电击的CSb+, 18个CS-, 14个带电击的CSa+和14个带电击的CSb+). 对不同种类型条件性刺激(CSa+, CSb+和CS-)的颜色在所有被试中进行了平衡. 所有被试在全部扫描结束后还要对CSa+, CSb+和CS-的主观恐惧程度在1~7点量表上进行主观评定, 其作为恐惧的主观指标. 而且, 整个过程中, 记录着皮肤电SCR, 其作为恐惧的客观指标, 皮肤电数据的获得是用和BioPac皮电模块相连的两个Ag-AgCl为电极, 在左手食指和中指上收集的, 其数据采样率为每秒200. 以刺激呈现0.5~4.5 s的波峰和基线的差异为皮肤电反应水平. 将原始的皮肤电数据开平方根, 然后除以被试对电击的平均皮电水平作为最后的统计值(图1)^[8,9].

1.4 fMRI数据采集

数据采集使用重庆西南大学脑成像中心Siemens Trio 3T磁共振扫描仪. 功能像(EPI像)的扫描序列是平面回波成像脉序列(echo planar imaging, EPI), 扫描参数如下: FOV (field of view)=220 mm×220 mm, TR (repetition time)=2000 ms, TE (echo time)=25 ms, Matrix=64×64, 层数为32, 层厚为4.5 mm, 层间距为0 mm, voxel wise=3.4 mm×3.4 mm×4 mm, flip angle=85°. 3D像(无间隔三维全脑)的扫描序列是梯度回波脉冲序列(SPGR), 扫描参数如下FOV=250 mm×250 mm, TE=

图1 实验流程图(网络版彩图)

A: 对于睡眠剥夺组被试, 经历24 h的睡眠剥夺后, 进行恐惧习得和巩固任务; 而控制组被试在正常睡眠后进行恐惧习得和巩固任务。B: 首先进行基线静息态扫描(静息态1), 紧接着进行条件化恐惧习得任务, 在屏幕中央呈现“+”, 持续6~10 s (jitter), 紧接着随机呈现CSa+, CSb+和CS-中的一种条件性刺激(如果是CSa+或CSb+, 有43.75%的概率跟随电击, 而CS-至始至终未跟着电击; 整个恐惧习得任务完成后, 立即对每个被试进行8 min的静息态扫描(静息态2))

2.52 ms, TR=1900 ms, flip angle=9°, 层数为176, 层厚为1 mm, 层间距为0 mm, resolution: 0.98 mm×0.98 mm.

1.5 fMRI数据分析

fMRI数据分析采用软件SPM12, DPABI2.1 and REST1.8^[37-39]。预处理包含时间矫正、头动矫正(为确保数据稳定性去除前5个volumes, 以第一个volumes为基准对齐以减少头动)、功能像与结构像的配准、结构像分割、空间标准化、空间平滑(FWHM=6 mm)。

预处理后, 对fMRI数据进行了去线性漂移, 然后对时间序列信号进行快速傅里叶变换(fast Fourier transform, FFT), 以其周期性的正弦或余弦函数的导数叠加实现向频域的变换, 得到具有相位和振幅的属性的功率谱; 然后将每个体素的时间序列频谱在具有生理学意义的闭区间[0.01~0.08 Hz]间进行高通滤波处理, 以去除极低频的噪音信号及高频的心跳、呼吸生物活动反应信号, 将每个体素的0.01~0.08 HZ信号间的功率谱开方得到低频振幅值(amplitude of low-frequency fluctuation, ALFF), 将0.01~0.08 HZ范围内的

低频振幅值相加得到总和值, 与0~0.25 HZ全频段的振幅总和值相除, 即得到fALFF值^[32,40]。对于睡眠剥夺组被试和控制组被试, 分别采用了配对样本 T 检验(Rest2 vs. Rest1)来考察恐惧睡眠剥夺和控制组在恐惧记忆巩固大脑活动模式的差异; 同时还以杏仁核(维克森大学医学院的解剖模板, Wake Forest University School of Medicine Pick Atlas)和腹内侧前额叶($xyz=4, 32, -5$)为种子点^[36], 分别提取了每个被试的fALFF, 采用双样本 T 检验比较了两组被试在杏仁核和腹内侧前额叶fALFF改变量(Rest2 vs. Rest1)的差异。

2 实验结果

2.1 问卷结果

以匹兹堡睡眠质量量表(Pittsburgh sleep quality index, PSQI)为测量工具^[41], 控制组和睡眠剥夺组被试睡眠质量指数如下: 控制组: ($\bar{x}=4.35$, $SD=1.73$); 睡眠剥夺组: ($\bar{x}=4.07$, $SD=1.78$), 两组被试在睡眠质量上无显著性差异($t=0.73$, $P=0.47$); 以特质-状态焦虑问卷

(state trait anxiety inventory, STAI)为测量工具^[42], 两组被试的特质焦虑分数如下: 控制组: ($\bar{x}=42.05$, $SD=7.97$); 睡眠剥夺组: ($\bar{x}=40.33$, $SD=9.43$), 两组被试在特质焦虑程度无显著性差异($t=0.90$, $P=0.37$). 两组被试的状态焦虑分数如下: 控制组: ($\bar{x}=35.05$, $SD=5.13$); 睡眠剥夺组: ($\bar{x}=36.65$, $SD=7.32$), 两组被试在状态焦虑程度无显著性差异($t=1.09$, $P=0.28$). 以抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)为测量工具^[43], 两组被试的抑郁Z分数如下: 控制组: ($\bar{x}=44.45$, $SD=7.37$); 睡眠剥夺组: ($\bar{x}=44.35$, $SD=7.64$), 两组被试在抑郁程度上无显著性差异($t=0.06$, $P=0.95$). 以积极消极情绪量表(positive and negative affect scale, PANAS)为测量工具^[44], 两组被试在PANAS情绪量表得分如下: 控制组: (积极情绪P, $\bar{x}=27.70$, $SD=5.54$; 消极情绪N, $\bar{x}=14.13$, $SD=3.44$); 睡眠剥夺组: (积极情绪P, $\bar{x}=27.07$, $SD=7.02$; 消极情绪N, $\bar{x}=13.11$, $SD=2.74$), 两组被试在积极情绪($t=0.46$, $P=0.65$)和消极情绪上均无显著性差异($t=1.34$, $P=0.19$).

2.2 行为结果

对于主观恐惧水平, 恐惧习得阶段, 双因素方差分析(组别: 实验组/控制组 $\times$ 刺激类型: CSa+/CSb+/CS-)结果显示, 这两个因素之间有显著的交互作用($F(2, 134)=3.266$, $P<0.05$); 组别的主效应显著($F(1, 51)=7.39$, $P<0.01$), 刺激类型的主效应也显著($F(2, 102)=435.4$, $P<0.001$). 接下来进行了简单效应分析. 其结果如下: 对于控制组被试, 其对CSa+, CSb+和CS-的主观恐惧程度如下: the CSa+: $\bar{x}=4.27$, $SD=1.02$, the CSb+: $\bar{x}=4.25$, $SD=1.19$, the CS-: $\bar{x}=1.31$, $SD=0.58$; 对于睡眠剥夺组被试, 其对CSa+, CSb+和CS-的主观恐惧程度如下: the CSa+: $\bar{x}=4.84$, $SD=0.77$, the CSb+: $\bar{x}=4.80$, $SD=0.77$, the CS-: $\bar{x}=1.31$, $SD=0.57$. 本研究组比较了控制组被试在恐惧习得阶段对CSa+, CSb+和CS-的主观恐惧分数. 其结果显示, 控制组被试对CSa+的主观恐惧分数显著高于CS- ($P<0.001$), 对CSb+亦是如此($P<0.001$), 而CSa+和CSb+的主观恐惧分数无显著性差异($P=0.93$); 对于睡眠剥夺组被试, 其结果显示, 在恐惧习得阶段对CSa+的主观恐惧分数显著高于CS- ($P<0.001$), 对CSb+亦是如此($P<0.001$), CSa+和CSb+的主观恐惧分数无显著性差异($P=0.79$). 接下来, 还分析了另一个方向的简单效应. 其结果显示, 睡眠剥夺组被

试对CSa+的主观恐惧分数显著高于控制组($P<0.01$), 而且睡眠剥夺组被试对CSb+的主观恐惧分数显著高于控制组($P<0.05$), 然而, 两组被试对CS-的主观恐惧分数并没有显著性差异($P=0.97$). 恐惧习得的主观指标分析结果说明, 控制组和睡眠剥夺组被试均习得了恐惧, 但睡眠剥夺增强了恐惧习得效果.

对于客观恐惧水平, 恐惧习得阶段, 双因素方差分析(组别: 实验组/控制组 $\times$ 刺激类型: CSa+/CSb+/CS-)结果显示, 这两个因素之间有显著的交互作用($F(2, 88)=3.29$, $P<0.05$); 组别的主效应显著($F(1, 51)=7.81$, $P<0.01$), 刺激类型的主效应也显著($F(2, 102)=169.7$, $P<0.001$); 接下来进行了简单效应分析, 其结果如下: 对于控制组被试, 其对CSa+, CSb+和CS-的皮肤电指数SCR如下: the CSa+: $\bar{x}=0.51$, $SD=0.07$, the CSb+: $\bar{x}=0.50$, $SD=0.08$, the CS-: $\bar{x}=0.26$, $SD=0.08$; 对于睡眠剥夺组被试, 其对CSa+, CSb+和CS-的皮肤电指数SCR如下: the CSa+: $\bar{x}=0.68$, $SD=0.22$, the CSb+: $\bar{x}=0.64$, $SD=0.24$, the CS-: $\bar{x}=0.33$, $SD=0.21$. 本研究比较了控制组被试在恐惧习得阶段对CSa+, CSb+和CS-的皮肤电指数SCR. 其结果显示, 对CSa+和CSb+的皮肤电指数SCR显著高于CS- ($P<0.001$), 而CSa+和CSb+的皮肤电指数SCR无显著性差异($P=0.72$); 对于睡眠剥夺组, 其结果显示, 在恐惧习得阶段对CSa+的皮肤电指数SCR显著高于CS- ($P<0.001$), 对CSb+亦是如此($P<0.001$), CSa+和CSb+的皮肤电指数SCR无显著性差异($P=0.17$). 接下来, 还分析了另一个方向的简单效应. 其结果显示, 睡眠剥夺组被试对CSa+的皮肤电指数SCR显著高于控制组($P<0.005$), 而且睡眠剥夺组被试对CSb+的皮肤电指数SCR显著高于控制组($P<0.01$), 然而, 两组被试对CS-的皮肤电指数SCR并没有显著性差异($P=0.12$) (图2). 恐惧习得的客观指标分析结果亦说明, 控制组和睡眠剥夺组被试均习得了恐惧, 但睡眠剥夺增强了恐惧习得效果.

2.3 脑成像结果

为了考察睡眠剥夺影响恐惧记忆巩固的神经基础, 以fALFF为指标, 比较了睡眠剥夺组和控制组被试恐惧记忆巩固过程中大脑自发活动的差异. 对于控制组被试, 配对样本T检验(Rest2 vs. Rest1)的结果显示, 腹内侧面额叶有更大的激活(vmPFC, peak voxel coordinates, (3, 33, -6), $t(25)=7.95$, Voxel-wise FDR-

corrected $P < 0.05$); 对于睡眠剥夺组被试, 双侧杏仁核有更大的激活(left amygdala, peak voxel coordinates, $(-27, -6, -15)$, $t(15)=4.91$; right amygdala, peak voxel coordinates, $(27, -6, -15)$, $t(15)=5.39$; voxel-wise FDR-corrected $P < 0.05$) (图3). 结果说明, 睡眠剥夺增强了恐惧记忆巩固过程中杏仁核的活动。

为了进一步考察睡眠剥夺影响恐惧记忆巩固的神经基础, 使用感兴趣区域(regions of interest, ROI)分析的方法进行验证。分别提取了睡眠剥夺组被试和控制组被试腹内侧前额叶和杏仁核的fALFF值, 其结果如下: 控制组($N=26$)杏仁核的fALFF值的改变量的 $\bar{x}$, SD和SE如下: $\bar{x}=0.04$, $SD=0.11$, $SE=0.02$; 睡眠剥夺组($N=16$)杏仁核的fALFF值的改变量的 $\bar{x}$, SD和SE如下: $\bar{x}=0.30$, $SD=0.20$, $SE=0.05$. 控制组($N=26$)腹内侧前额叶的fALFF值的改变量的 $\bar{x}$, SD和SE如下: $\bar{x}=0.59$, $SD=0.21$, $SE=0.04$; 睡眠剥夺组($N=16$)腹内侧前额叶的fALFF值的改变量的 $\bar{x}$, SD和SE如下: $\bar{x}=-0.12$, $SD=0.52$, $SE=0.11$. 独立样本 T 检验的结果显示, 睡眠剥夺组杏仁核的fALFF值的改变量(变化量Rest2 vs. Rest1)显著大于控制组($t(40)=5.34$, $P < 0.001$), 而控制

组腹内侧前额叶的fALFF值的改变量显著大于睡眠剥夺组($t(40)=6.80$, $P < 0.001$) (图4). 睡眠剥夺增强了杏仁核的活动, 减弱了腹内侧前额叶的活动, 同时也可能减弱了腹内侧前额叶对杏仁核自上而下的调节作用。

2.4 相关分析结果

为了考察恐惧习得阶段主观和客观恐惧指标是否与恐惧记忆巩固阶段杏仁核和腹内侧前额叶的活动改变量相关, 还做了相应的皮尔逊相关分析。皮尔逊相关分析的结果表明, 对于睡眠剥夺组, 杏仁核的活动改变量与主观恐惧分数呈现显著的正相关($r=0.67$, $P < 0.01$), 和客观恐惧分数亦存在显著的正相关($r=0.57$, $P < 0.05$); 然而对于控制组, 腹内侧前额叶的活动改变量与主观恐惧分数呈现显著的正相关($r=0.50$, $P < 0.01$), 与客观恐惧分数亦存在显著的正相关($r=0.45$, $P < 0.05$). 此外, 对于睡眠剥夺组, 腹内侧前额叶的活动改变量与主观恐惧分数和客观恐惧分数均无相关($P > 0.05$), 对于控制组, 杏仁核的活动改变量与主观恐惧分数和客观恐惧分数均无相关($P > 0.05$) (图5). 结果说明, 对于睡眠剥夺组被试, 睡眠剥夺恐惧习得过程中主观和客

图2 行为结果

控制组被试和睡眠剥夺组被试在恐惧习得阶段的主观恐惧分数和皮肤电均值(误差线为SD)

图3 全脑分析结果

A: 睡眠剥夺组被试在恐惧记忆巩固过程中杏仁核激活增强; B: 而控制组被试在恐惧记忆巩固过程中腹内侧前额叶激活增强

图 4 感兴趣区域分析结果

睡眠剥夺增强了杏仁核的活动, 减弱了腹内侧前额叶的活动(误差线为SD)

观恐惧分数均与恐惧记忆巩固过程中杏仁核的活动改变量相关; 然而, 对于控制组被试, 睡眠剥夺恐惧习得过程中主观和客观恐惧分数均与恐惧记忆巩固过程中腹内侧前额叶的活动改变量相关。

3 讨论

本研究使用fMRI技术探究了睡眠剥夺影响恐惧记忆巩固的认知神经基础。行为结果发现, 相对于控制组, 睡眠剥夺组在恐惧习得过程中有更大的主观恐惧

和皮肤电反应; 脑成像结果发现, 恐惧记忆巩固中, 睡眠剥夺组增强了杏仁核的活动, 减弱了腹内侧前额叶的活动; 进一步的相关分析表明, 睡眠剥夺组杏仁核活动变化程度与个体恐惧习得效果呈现显著的正相关, 而控制组腹内侧前额叶活动变化程度与个体恐惧习得效果呈现显著的正相关。睡眠剥夺可能削弱了恐惧记忆巩固过程中腹内侧前额叶对杏仁核自上而下的调节能力, 本研究对于建构和完善恐惧记忆巩固的神经网络模型具有重要的科学价值; 同时, 对于理解恐惧症、焦虑症和PTSD等精神疾病的起因及临床治疗的应用价值也显而易见。

行为结果发现, 相比于控制组, 睡眠剥夺组在恐惧习得过程中有更大的主观恐惧和皮肤电水平。这与前人的研究结果一致, Yoo等人^[28]的研究发现, 睡眠剥夺组对消极刺激有更大的偏向, 会将更多的图片刺激评价为消极; 而且睡眠剥夺组被试对图片刺激的评分分数与其标准分数相关强度比控制组更低, 表明睡眠剥夺状态下情绪会更不稳定; 后来van der Helm等人^[29]采用负性到正性不同效价情绪图片, 结果表明白天非睡眠组再次经历相同的情绪图片时, 其对情绪图片的主观评定强度几乎没有变化, 而睡眠组的主观强度下降; Anderson和Platten^[45]的研究也发现面对消极刺激

图 5 相关分析结果

A: 控制组被试腹内侧前额叶fALFF的改变量与主观恐惧分数的相关图; B: 控制组被试腹内侧前额叶fALFF的改变量与皮肤电均值的相关图; C: 睡眠剥夺组被试杏仁核fALFF的改变量与主观恐惧分数的相关图; D: 睡眠剥夺组被试杏仁核fALFF的改变量与皮肤电均值的相关图

时, 睡眠剥夺抑制了情绪控制反应。这些研究均表明, 睡眠不足或睡眠剥夺会增强恐惧习得过程和减弱情绪抑制的反应。

本研究的脑成像结果发现, 恐惧记忆巩固中, 睡眠剥夺组增强了杏仁核的活动, 减弱了腹内侧前额叶的活动。Yoo等人^[28]的研究发现, 睡眠剥夺增强了杏仁核的活动, 同时也减弱了杏仁核和腹内侧前额叶的功能连接强度。后来van der Helm等人^[29]的研究也表明, 再次经历相同的情绪刺激时, 非睡眠组的杏仁核的激活强度显著强于睡眠组, 而杏仁核与内侧前额叶的功能连接要弱于睡眠组。在REM睡眠阶段, Gamma波强度与杏仁核的强度和主观评定强度的下降呈显著的正相关。最近的研究表明, 睡眠剥夺损害了中枢神经系统和外周神经系统对威胁性刺激的区分能力。即睡眠剥夺组被试在外周神经系统的表现上并不能很好地区分威胁性刺激和非威胁性刺激, 而且中枢神经亦不能很好地进行区分。具体表现为睡眠剥夺组被试对威胁性刺激和非威胁性刺激的心率并无显著差异, 双侧前脑岛和背外侧前扣带回的在面对威胁性刺激和非威胁性刺激的激活强度并无显著性差异。不仅如此, 前脑岛、背外侧前扣带回和右侧杏仁核激活强度与心率强度呈现显著的正相关, 两者的正相关说明中枢神经系统和外周神经系统在对威胁性刺激和非威胁性刺激区分能力的一致性。更为重要的是, 前脑岛、背外侧前扣带回和杏仁核对威胁性刺激和非威胁性刺激区分能力与REM过程中gamma的活动呈现显著的负相关^[46]。前人的研究和本研究均说明睡眠剥夺可能促使内侧前额叶失去了对杏仁核自上而下的调节, 致使杏仁核面对消极刺激时活动更高, 从而使情绪的表达就更为消极; 同时从侧面也说明了睡眠的重要性, 可能充分的睡眠会使大脑重新设定第二天对情绪刺激的正确合理的反应, 保持杏仁核和内侧前额叶间功能连接的整合性, 从而管理行为反应。

本研究的相关分析结果发现, 睡眠剥夺组杏仁核活动变化程度与个体恐惧习得效果呈现显著的正相关, 而控制组腹内侧前额叶活动变化程度与个体恐惧习得效果呈现显著的正相关。动物和人类条件性恐惧学习模型发现以下3个因素在创伤性应激障碍的发展中发挥着重要的作用: (i) 异常的条件性恐惧习得和消退过程。与焦虑相关的情绪障碍患者(如PTSD患者)可能会改变恐惧的习得过程, 具体表现为在习得和消

退过程中杏仁核和背外侧前扣带回有更大的激活, 腹内侧前额叶的激活减弱^[47-50]; (ii) 夸大的威胁检测, 创伤性应激障碍患者中, 过度活跃的凸显网络(杏仁核、脑岛和背外侧前扣带回)可能与PTSD的症状严重程度息息相关^[50-54]; (iii) 减弱的情绪调节能力。创伤性应激障碍患者中(PTSD), 腹内侧前额叶对杏仁核自上而下的调节能力会减弱或消失, 致使杏仁核的活动更强和腹内侧前额叶的活动减退^[55,56]。因此, 本研究表明恐惧记忆巩固过程中, 睡眠剥夺增强了杏仁核的活动却减弱腹内侧前额叶的活动, 而且睡眠剥夺使腹内侧前额叶对杏仁核自上而下的调节能力减弱或消失。

4 总结与展望

总之, 本研究使用fMRI技术发现, 睡眠剥夺组增强了杏仁核的活动, 减弱了腹内侧前额叶的活动。该结果表明, 睡眠剥夺可能削弱了恐惧记忆巩固过程中腹内侧前额叶对杏仁核自上而下的调节能力。本研究将睡眠剥夺和恐惧记忆习得和巩固过程联系起来, 探究了睡眠剥夺影响恐惧习得的认知机制和恐惧记忆巩固的神经机制, 对于从睡眠剥夺或睡眠不足角度建构和完善恐惧记忆巩固的神经网络模型具有重要的科学价值; 同时, 本研究对理解恐惧症焦虑症PTSD等情绪障碍的起因及临床治疗的应用价值也显而易见。研究发现睡眠剥夺可能削弱了恐惧记忆巩固过程中腹内侧前额叶对杏仁核自上而下的调节能力, 致使个体表现出异常的恐惧习得和恐惧记忆巩固过程, 因此, 未来研究可以在睡眠不足或者睡眠剥夺的状态下, 减弱杏仁核或增强内侧前额叶的活动(如运用实时fMRI来调节杏仁核或腹内侧前额叶的活动), 从而使个体做出对情绪刺激的正确合理的反应。

虽然本研究对于理解睡眠剥夺影响恐惧记忆巩固的神经机制具有重要的作用, 但还存在一些亟需解决的问题。未来的研究方向可以集中在以下4个方面。(i) 本研究未采用客观测量工具如EEG或PCG去监控睡眠质量, 未来的研究应采用客观测量工具去监控被试的睡眠质量; (ii) 未来的研究需要探究睡眠剥夺或睡眠不足与恐惧习得、恐惧记忆巩固和恐惧消退间的关系, 尤其需要关注睡眠剥夺影响恐惧习得、再巩固和消退的神经机制; (iii) 未来的研究应该测量经过睡

眠恢复后, 过度巩固这种效应是否依然存在以及杏仁核和腹内侧前额叶的活动是否会恢复; (iv) 有研究以重测信度为指标, 提出了分频段的低频振幅的方法, 并

指出slow4频段具备最高的重测信度且表现出对基底节低频活动的特异性^[40], 因此未来的研究应该做更精细的分析, 将slow4, slow5频段也纳入核心结果中。

参考文献

- Kim J J, Jung M W. Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: a critical review. *Neurosci Biobehav Rev*, 2006, 30: 188–202
- LeDoux J E. Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci*, 2000, 23: 155–184
- Maren S. Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annu Rev Neurosci*, 2001, 24: 897–931
- 孙楠, 魏艺铭, 李倩, 等. 条件性恐惧记忆消退返回的性别差异. *心理学报*, 2012, 44: 314–321
- 冯攀, 郑涌. 睡眠剥夺影响恐惧情绪加工的认知神经机制. *心理科学进展*, 2015, 9: 1579–1587
- 冯攀, 冯廷勇. 恐惧情绪加工的神经机制. *心理学探新*, 2013, 33: 209–214
- 冯攀. 恐惧情绪加工的神经机制——基于静息态的研究. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学, 2013
- Schiller D, Monfils M H, Raio C M, et al. Preventing the return of fear in humans using reconsolidation update mechanisms. *Nature*, 2010, 463: 49–53
- Schiller D, Kanen J W, LeDoux J E, et al. Extinction during reconsolidation of threat memory diminishes prefrontal cortex involvement. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 20040–20045
- Feng T Y, Feng P, Chen Z C. Altered resting-state brain activity at functional MRI during automatic memory consolidation of fear conditioning. *Brain Res*, 2013, 1523: 58–67
- Feng P, Feng T, Chen Z, et al. Memory consolidation of fear conditioning: bi-stable amygdala connectivity with dorsal anterior cingulate and medial prefrontal cortex. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 2014, 9: 1730–1737
- Feng P, Zheng Y, Feng T. Spontaneous brain activity following fear reminder of fear conditioning by using resting-state functional MRI. *Sci Rep*, 2015, 5: 16701
- Feng P, Zheng Y, Feng T. Resting-state functional connectivity between amygdala and the ventromedial prefrontal cortex following fear reminder predicts fear extinction. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 2016, 11: 991–1001
- Davis M, Walker D L, Myers K M. Role of the amygdala in fear extinction measured with potentiated startle. *Ann New York Acad Sci*, 2003, 985: 218–232
- Liberzon I, Abelson J L. Context processing and the neurobiology of post-traumatic stress disorder. *Neuron*, 2016, 92: 14–30
- Etkin A, Egner T, Kalisch R. Emotional processing in anterior cingulate and medial prefrontal cortex. *Trends Cognitive Sci*, 2011, 15: 85–93
- Etkin A, Wager T D. Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. *Am J Psychiatry*, 2007, 164: 1476–1488
- Fullana M A, Harrison B J, Soriano-Mas C, et al. Neural signatures of human fear conditioning: an updated and extended meta-analysis of fMRI studies. *Mol Psychiatry*, 2016, 21: 500–508
- Greco J A, Liberzon I. Neuroimaging of fear-associated learning. *Neuropsychopharmacology*, 2016, 41: 320–334
- Hartley C A, Fischl B, Phelps E A. Brain structure correlates of individual differences in the acquisition and inhibition of conditioned fear. *Cerebral Cortex*, 2011, 21: 1954–1962
- LaBar K S, Cabeza R. Cognitive neuroscience of emotional memory. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7: 54–64
- Morgan M A, LeDoux J E. Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Behav Neurosci*, 1995, 109: 681–688
- Milad M R, Quirk G J. Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*, 2002, 420: 70–74
- Quirk G J. Memory for extinction of conditioned fear is long-lasting and persists following spontaneous recovery. *Learn Mem*, 2002, 9: 402–407
- van Marle H J F, Hermans E J, Qin S, et al. Enhanced resting-state connectivity of amygdala in the immediate aftermath of acute psychological stress. *Neuroimage*, 2010, 53: 348–354
- Schultz D H, Balderston N L, Helmstetter F J. Resting-state connectivity of the amygdala is altered following Pavlovian fear conditioning. *Front*

- [Hum Neurosci](#), 2012, 6: 242
- 27 Schultz D H. Changes in resting-state functional connectivity following delay and trace fear conditioning acquisition and extinction. Doctor Dissertation. Milwaukee: The University of Wisconsin-Milwaukee, 2014
- 28 Yoo S S, Gujar N, Hu P, et al. The human emotional brain without sleep—a prefrontal amygdala disconnect. [Curr Biol](#), 2007, 17: R877–R878
- 29 van der Helm E, Yao J, Dutt S, et al. REM sleep depotentiates amygdala activity to previous emotional experiences. [Curr Biol](#), 2011, 21: 2029–2032
- 30 Thomas M, Sing H, Belenky G, et al. Neural basis of alertness and cognitive performance impairments during sleepiness. I. Effects of 24 h of sleep deprivation on waking human regional brain activity. [J Sleep Res](#), 2000, 9: 335–352
- 31 Feng P, Becker B, Zheng Y, et al. Sleep deprivation affects fear memory consolidation: bi-stable amygdala connectivity with insula and ventromedial prefrontal cortex. [Social Cogn Affect Neurosci](#), 2018, 13: 145–155
- 32 Zou Q H, Zhu C Z, Yang Y, et al. An improved approach to detection of amplitude of low-frequency fluctuation (ALFF) for resting-state fMRI: fractional ALFF. [J Neurosci Methods](#), 2008, 172: 137–141
- 33 Biswal B B. Resting state fMRI: a personal history. [Neuroimage](#), 2012, 62: 938–944
- 34 Fox M D, Raichle M E. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. [Nat Rev Neurosci](#), 2007, 8: 700–711
- 35 Buckner R L, Vincent J L. Unrest at rest: default activity and spontaneous network correlations. [Neuroimage](#), 2007, 37: 1091–1096
- 36 Agren T, Engman J, Frick A, et al. Disruption of reconsolidation erases a fear memory trace in the human amygdala. [Science](#), 2012, 337: 1550–1552
- 37 Friston K J, Holmes A P, Worsley K J, et al. Statistical parametric maps in functional imaging: a general linear approach. [Hum Brain Mapp](#), 1994, 2: 189–210
- 38 Song X W, Dong Z Y, Long X Y, et al. REST: a toolkit for resting-state functional magnetic resonance imaging data processing. [PLoS ONE](#), 2011, 6: e25031
- 39 Yan C G, Zang Y F. DPARSF: a MATLAB toolbox for “pipeline” data analysis of resting-state fMRI. [Fronti Syst Neurosci](#), 2010, 4: 13
- 40 Zuo X N, Di Martino A, Kelly C, et al. The oscillating brain: complex and reliable. [NeuroImage](#), 2010, 49: 1432–1445
- 41 Buysse D J, Reynolds Iii C F, Monk T H, et al. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. [Psychiatry Res](#), 1989, 28: 193–213
- 42 Spielberger C D. Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Palo Alto: Consulting Psychologists Press, 1983
- 43 Zung W W K. A self-rating depression scale. [Arch Gen Psychiatry](#), 1965, 12: 63–70
- 44 Watson D, Clark L A, Tellegen A. Development and validation of brief measures of positive and negative affect: the PANAS scales. [J Personal Social Psychol](#), 1988, 54: 1063–1070
- 45 Anderson C, Platten C R. Sleep deprivation lowers inhibition and enhances impulsivity to negative stimuli. [Behav Brain Res](#), 2011, 217: 463–466
- 46 Goldstein-Piekarski A N, Greer S M, Saletin J M, et al. Sleep deprivation impairs the human central and peripheral nervous system discrimination of social threat. [J Neurosci](#), 2015, 35: 10135–10145
- 47 Milad M R, Pitman R K, Ellis C B, et al. Neurobiological basis of failure to recall extinction memory in posttraumatic stress disorder. [Biol Psychiatry](#), 2009, 66: 1075–1082
- 48 Garfinkel S N, Abelson J L, King A P, et al. Impaired contextual modulation of memories in PTSD: an fMRI and psychophysiological study of extinction retention and fear renewal. [J Neurosci](#), 2014, 34: 13435–13443
- 49 Marin M F, Song H, VanElzakker M B, et al. Association of resting metabolism in the fear neural network with extinction recall activations and clinical measures in trauma-exposed individuals. [Am J Psychiatry](#), 2016, 173: 930–938
- 50 Rougemont-Bücking A, Limman C, Zeffiro T A, et al. Altered processing of contextual information during fear extinction in PTSD: an fMRI study. [CNS Neurosci Ther](#), 2011, 17: 227–236
- 51 Admon R, Lubin G, Stern O, et al. Human vulnerability to stress depends on amygdala’s predisposition and hippocampal plasticity. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2009, 106: 14120–14125
- 52 Aupperle R L, Allard C B, Grimes E M, et al. Dorsolateral prefrontal cortex activation during emotional anticipation and neuropsychological performance in posttraumatic stress disorder. [Arch Gen Psychiatry](#), 2012, 69: 360–371
- 53 Bryant R A, Kemp A H, Felmingham K L, et al. Enhanced amygdala and medial prefrontal activation during nonconscious processing of fear in

- posttraumatic stress disorder: an fMRI study. *Hum Brain Mapp*, 2008, 29: 517–523
- 54 van Rooij S J H, Kennis M, Vink M, et al. Predicting treatment outcome in PTSD: a longitudinal functional MRI study on trauma-unrelated emotional processing. *Neuropsychopharmacology*, 2016, 41: 1156–1165
- 55 Jovanovic T, Ely T, Fani N, et al. Reduced neural activation during an inhibition task is associated with impaired fear inhibition in a traumatized civilian sample. *Cortex*, 2013, 49: 1884–1891
- 56 Yehuda R, LeDoux J. Response variation following trauma: a translational neuroscience approach to understanding PTSD. *Neuron*, 2007, 56: 19–32

Neural mechanisms underlying fear memory consolidation influenced by sleep deprivation using the fraction amplitude of low-frequency fluctuations as marker

FENG Pan^{1,2}, JIN YuLe³, ZHENG Yong^{1,2} & FENG TingYong^{1,2}

1 Faculty of Psychology, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2 Key Laboratory of Cognition and Personality, Ministry of Education, Chongqing 400715, China;

3 Faculty of Education, Southwest University, Chongqing 400715, China

Fear is a biologically adaptive response to an environmental threat, and fear learning plays a key role in adaptive function. Sleep deprivation (SD) serves a crucial role in the process of fear memory consolidation. However, the impact of sleep deprivation on the acquisition of fear and subsequent fear memory consolidation remains unclear. Thus, the present study measured human brain activity before and after fear acquisition under conditions of 24 h of sleep deprivation and normal sleep using resting-state functional magnetic resonance imaging. Behaviorally, the SD group exhibited greater fear ratings and skin conductance responses (SCR) than the control group at the fear acquisition stage. Critically, neuroimaging results revealed that at the fear memory consolidation stage, amygdala exhibited increased activity in the SD group, whereas ventromedial prefrontal cortex (vmPFC) exhibited increased activity in the control group. Moreover, at the fear acquisition stage, the change in the activity in the amygdala during fear memory consolidation was positively correlated with fear ratings and SCR in the SD group. However, at the fear acquisition stage, the change in activity in the vmPFC was positively correlated with fear ratings in the control group. Taken together, these findings suggest that SD may weaken the top-down ability of the vmPFC to regulate the amygdala during fear memory consolidation.

fear, sleep deprivation, fear memory consolidation, amygdala, ventromedial prefrontal cortex (vmPFC), functional magnetic resonance imaging (fMRI)

doi: [10.1360/N052017-00281](https://doi.org/10.1360/N052017-00281)