

- cholecystokinin in the periaqueductal gray of a rat migraine model [J]. *Neurosci Lett*, 2015(587): 29-34.
- [25] ADHAM N, BARD J A, ZGOMBICK J M, et al. Cloning and characterization of the guinea pig 5-HT_{1F} receptor subtype: a comparison of the pharmacological profile to the human species homolog [J]. *Neuropharmacology*, 1997, 36(4/5): 569-576.
- [26] FÄRKKILÄ M, DIENER H C, GÉRAUD G, et al. Efficacy and tolerability of lasmiditan, an oral 5-HT_{1F} receptor agonist, for the acute treatment of migraine: a phase 2 randomised, placebo-controlled, parallel-group, dose-ranging study [J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(5): 405-413.
- [27] BOUCHELET I, CASE B, OLIVIER A, et al. No contractile effect for 5-HT_{1D} and 5-HT_{1F} receptor agonists in human and bovine cerebral arteries: similarity with human coronary artery [J]. *Br J Pharmacol*, 2000, 129(3): 501-508.
- [28] NELSON D L, PHEBUS L A, JOHNSON K W, et al. Preclinical pharmacological profile of the selective 5-HT_{1F} receptor agonist lasmiditan [J]. *Cephalalgia*, 2010, 30(10): 1159-1169.
- [29] CHARLES A. Defining and refining 5-HT receptor targets for migraine [J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(5): 383-384.
- [30] OLESEN J. 5-Hydroxytryptamine 1F (5-HT_{1F}) receptor agonism. A possible new treatment principle for acute migraine attacks [J]. *Cephalalgia*, 2010, 30(10): 1157-1158.
- [31] DEMARQUAY G, LOTHE A, ROYET J P, et al. Brainstem changes in 5-HT_{1A} receptor availability during migraine attack [J]. *Cephalalgia*, 2011, 31(1): 84-94.
- [32] RICHER M, HEN R, BLIER P. Modification of serotonin neuron properties in mice lacking 5-HT_{1A} receptors [J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 435(2/3): 195-203.
- [33] WEISSMANN-NANOPOULOS D, MACH E, MAGRE J, et al. Evidence for the localization of 5HT_{1A} binding sites on serotonin containing neurons in the raphe dorsalis and raphe centralis nuclei of the rat brain [J]. *Neurochem Int*, 1985, 7(6): 1061-1072.
- [34] INVERNIZZI R, CARLI M, DI CLEMENTE A, et al. Administration of 8-hydroxy-2-(Di-n-propylamino)tetralin in raphe nuclei dorsalis and medianus reduces serotonin synthesis in the rat brain: differences in potency and regional sensitivity [J]. *J Neurochem*, 1991, 56(1): 243-247.
- [35] ELLRICH J, MESSLINGER K, CHIANG C Y, et al. Modulation of neuronal activity in the nucleus raphe magnus by the 5-HT(1)-receptor agonist naratriptan in rat [J]. *Pain*, 2001, 90(3): 227-231.
- [36] BOERS P M, DONALDSON C, ZAGAMI A S, et al. Naratriptan has a selective inhibitory effect on trigeminovascular neurones at central 5-HT_{1A} and 5-HT(1B/1D) receptors in the cat: implications for migraine therapy [J]. *Cephalalgia*, 2004, 24(2): 99-109.
- [37] SCHMUCK K, ULLMER C, KALKMAN H O, et al. Activation of meningeal 5-HT_{2B} receptors: an early step in the generation of migraine headache? [J]. *Eur J Neurosci*, 1996, 8(5): 959-967.
- [38] MOSKOWITZ M A. Pathophysiology of headache—past and present [J]. *Headache*, 2007, 47(Suppl 1): S58-S63.
- [39] JOHNSON K W, NELSON D L, DIECKMAN D K, et al. Neurogenic dural protein extravasation induced by meta-chlorophenylpiperazine (mCPP) involves nitric oxide and 5-HT_{2B} receptor activation [J]. *Cephalalgia*, 2003, 23(2): 117-123.
- [40] SCHMITZ B, ULLMER C, SEGELCKE D, et al. BF-1-A novel selective 5-HT_{2B} receptor antagonist blocking neurogenic dural plasma protein extravasation in guinea pigs [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015(751): 73-80.
- [41] WANG X, FANG Y, LIANG J, et al. Selective inhibition of 5-HT₇ receptor reduces CGRP release in an experimental model for migraine [J]. *Headache*, 2010, 50(4): 579-587.
- [42] MAHÉ C, LOETSCHER E, DEV K K, et al. Serotonin 5-HT₇ receptors coupled to induction of interleukin-6 in human microglial MC-3 cells [J]. *Neuropharmacology*, 2005, 49(1): 40-47.
- [43] BRENCAT A, ROMERO L, GARCÍA M, et al. 5-HT₇ receptor activation inhibits mechanical hypersensitivity secondary to capsaicin sensitization in mice [J]. *Pain*, 2009, 141(3): 239-247.
- [44] MORITOMO A, YAMADA H, MATSUZAWA-NOMURA T, et al. Synthesis and pharmacological evaluation of optically pure, novel carbonyl guanidine derivatives as dual 5-HT_{2B} and 5-HT₇ receptor antagonists [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(21): 6026-6038.
- [45] MORITOMO A, YAMADA H, WATANABE T, et al. Synthesis and structure-activity relationships of new carbonyl guanidine derivatives as novel dual 5-HT_{2B} and 5-HT₇ receptor antagonists. Part 2 [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(15): 4323-4337.

收稿日期: 2015-08-31

基于突触功能异常的自闭症发病机制研究进展

邵世怡¹, 陈琳¹, 蒋权¹, 龙森^{1,2}, 韩峰^{1*} (1.浙江大学药学院, 杭州 310058; 2.杭州市第七人民医院药剂科, 杭州 310013)

摘要: 作为神经元间行使功能和信息传递的关键部位, 突触的功能异常在自闭症病理过程中扮演的角色备受关注。在自闭症动物模型或患者中, 突触形态学发生了变化, 主要表现为树突棘密度、树突棘形态比例及突触后致密物质的异常, 这些可能与突触的发生、修剪及成熟过程受到干扰相关。此外, 相关突触蛋白如 NLGNs、NRXNs 和 SHANK3 等在自闭症患者中均发生了突变。实验研究也发现多条信号通路通过改变突触功能从而影响了自闭症疾病模型的社会交往能力。

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LQ13H310001); 杭州市科技发展计划项目(20130633B01); 浙江省药学会医院药学专项科研资助项目(2013ZYY39)

作者简介: 邵世怡, 女 Tel: (0571)88208402 E-mail: 470294819@qq.com *通信作者: 韩峰, 男, 博士, 教授 Tel: (0571)88208402 E-mail: changhuahan@zju.edu.cn

截止目前为止, 自闭症的病理机制和药物靶标仍未可知。本文就基于突触功能异常的自闭症发病机制研究进行综述。

关键词: 自闭症; 发病机制; 突触功能异常; 基因突变; 信号通路

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)04-0501-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.04.028

Advances in the Understanding of the Pathology of Autism Focusing on Synapse Dysfunction

SHAO Shiyi¹, CHEN Lin¹, JIANG Quan¹, LONG Sen^{1,2}, HAN Feng^{1*} (1.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2.Department of Pharmacy, Hangzhou No.7 People's Hospital, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT: Synapse is an essential component in function and information transmission between neurons, hence the role its dysfunction played in the pathology of autism has received much attention. The synaptic morphology changes have been found in animal model or patients of autism, mainly manifested by abnormalities in dendritic spine density, proportion of the dendritic spines and postsynaptic density(PSD), which are possibly correlated with interruptions in formation, maturation and maintenance of synapses. In addition, deletions and point mutations of the synaptic proteins such as NRXNs, SHANK3, NLGNs genes have been detected in ASD individuals. Multiple signaling pathways have been reported to affect the social contact ability in ASD models, possibly caused by synapse function disruptions. Until now, the pathogenesis and drug targets of autism still remains unknown, and thus pose great challenges to further studies. This review focuses on the role of synaptic dysfunction in human ASD.

KEY WORDS: autism; pathogenesis; synaptic function disorders; genic mutation; signaling pathway

自闭症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)是一组较为严重的有神经基础的广泛性发育障碍(pervasive developmental disorders, PDD), 是根据典型自闭症的核心症状进行扩展定义的广泛意义上的自闭症, 包括自闭症(autism, AS), 以及雷特综合征(Retts' syndrome)、阿斯伯格综合征(Asperger syndrome)、脆性 X 染色体综合征(Fragile X Syndrome, FXS)等。在该类谱系障碍中, 自闭症是最为严重、发病率最高的一种疾病, 本文将主要以典型自闭症为重点展开讨论。

自闭症的诊断标准主要包括其核心行为症状: ①社会交往障碍: 一般表现为与他人交往困难或不愿意交往, 甚至与父母缺乏情感依恋; ②言语和非言语交流缺陷: 完全无语言、语言发育落后、语言能力倒退, 或鹦鹉学舌式重复语言; ③兴趣狭窄及重复刻板行为: 兴趣狭窄、异常动作频繁、性格固执不愿意接受改变。自闭症多发病于婴幼儿期, 且以男性多见, 伴有明显的精神发育迟滞。据世界卫生组织(World Health Organization, WHO) 2013 年流行病学统计报道, 全球每 160 人中有一人罹患自闭症^[1]。目前自闭症缺乏特效治疗, 预后差, 多需终生照顾, 对社会及患者家庭造成沉重的精神及经济负担。我国尚无关于自闭症的全国大规模流行病学调查, 据估计发病率在 0.4%左右。

自闭症病因目前仍是世界医学的未解谜题。有学者推测自闭症是由遗传因素和多种环境因素共同作用相关的广泛性中枢神经系统发育障碍性疾病, 但从分子遗传到神经免疫、功能影像、神经解剖、神经化学和电生理等多方面的研究表明, 仍没有任何一种假说能从根本上完美地诠释自闭症的病因及发病机制。遗传学研究发现了一系列在自闭症患者中发生突变的基因, 如自闭症发病机制研究最广泛的 Neuroligin 家族蛋白、Neurexin 家族蛋白及 Shank3 家族蛋白等, 而位于 X 染色体上的 NLGN3 和 NLGN4X 则可能与自闭症患者男女差异密切相关。研究发现上述基因主要参与神经发育过程, 如突触发生和突触可塑性等, 提示神经突触功能异常可能是导致自闭症的重要疾病机制^[2]。

本综述根据近来自闭症与突触相关性的研究, 着眼于突触功能异常的诱因, 从突触相关基因突变、功能变化、信号通路等分子机制异常及环境因素入手, 归纳总结近年来基于突触功能异常的自闭症发病机制研究最新进展, 探讨自闭症与突触相关性的最新研究成果, 希望能对自闭症有一个更全面的认识。

1 突触与神经环路

1897 年, 英国神经生理学家 Sherrington 首次提出“突触”的概念: 神经元之间通过一种叫做

突触的结构来相互通讯,而并非直接连通。在内因和外部环境因素的共同作用下,神经元通过突触连接组织成一个神经环路来发挥特定功能传递特定信息,构成了感觉、知觉和行为的基础。在神经系统中,神经环路是解剖物理结构和生理功能的实体,其突触连接通常由很多的树突、轴突终端及神经胶质细胞共同组成。

研究者通过对自闭症患者脑部进行神经病理学及脑功能磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, FMRI),发现自闭症患者多个主要脑区出现异常。研究表明,枕颞内侧回、杏仁核、梭状回、前扣带回海马和眶额叶等脑区与社会交往相关,额叶右侧及中部和接受语言刺激有关,纹状体、皮质、脑顶叶及海马区域与行为执行功能、认知功能和学习记忆有关^[3]。在自闭症患者中,以边缘系统的杏仁体、前额叶皮层、海马、纹状体等脑区病变最为常见。据推测,自闭症患者感官、记忆、社会 and 情感的障碍可能与局部电路的兴奋性和抑制性神经递质不平衡有关,过度兴奋可能扰乱大脑皮质信号网络的正常形成,出现不稳定的状态。有文献报道,眶额叶-杏仁体环路和背外侧前额叶-海马区环路自闭症的发病密切相关,因而神经环路中突触功能的缺陷是导致自闭症患者行为和智能损害的原因之一^[4-5]。

2 突触功能异常与自闭症

精神和神经系统疾病很多都伴随着大脑中的突触结构和功能的改变。这种改变包括树突棘密度和形态异常、突触缺失及异常的突触传递信号和可塑性。精确控制突触的形成和成熟对于神经网络正确发挥大脑功能有着至关重要的作用^[6]。

2.1 突触结构异常

在细胞水平上,哺乳动物中枢神经系统的大多数兴奋性突触在神经元树突上出现微米长的突起,被称为树突棘,哺乳动物大脑中,兴奋性突触大多位于树突棘^[7-8]。突触结构异常主要表现为树突棘密度、形态的改变及树突棘结构的改变,后者主要包括致密结构出现、巨大树突棘、树突棘内细胞器改变、不和轴突接触的树突棘等。哺乳动物大脑皮层突触的发育是个动态过程,突触的构建、修剪伴随一生。在幼年时期突触形成超过修剪,产生多余的兴奋性突触对于神经回路组装有重要作用;随后突触修剪超过形成的数量。因此儿童时期树突棘密度达到峰值,从青年时期

开始下降^[9]。小鼠感觉皮质的在体成像进一步证明大脑发育过程中,树突棘的消除率大大超过脊形成^[10-11]。突触修剪对于神经回路正常运行至关重要。

最近有研究表明自闭症病程发展中突触修剪过程会减少。Tang 等^[12]通过对自闭症患者死后标本的研究,发现自闭症患者的上颞叶 V 层锥体神经元树突棘密度增加。此外研究发现,自闭症儿童的树突棘密度低于正常组,而自闭症青少年的树突棘密度高于正常组。这表明自闭症患者的树突棘修剪减少。还有大量研究发现,大部分自闭症小鼠模型中,如在 NLG R451C(NLGN-3 突变)、patDP/(15q11-13 重复)及 BTBR 的自闭症模型小鼠中,树突棘密度增加。且通过 PSD-95-GFP 和 gephyrin-GFP 分别标记兴奋性和抑制性突触后发现兴奋性和抑制性突触之间的比例变化可能是自闭症的病理原因之一,但 NLG R451C 和 patDP/小鼠在兴奋性和抑制性突触的变化并不一致,后者抑制性突触增加,而前者并无明显变化,因此其中具体关联还有待进一步研究^[13]。

此外,还有研究观察到突触后致密物(post-synaptic density, PSD)的形态学变化。突触后致密物是指在电镜下所见的突触后膜胞质面聚集的一层均匀而致密的物质。PSD 的形态结构有很大的可塑性。Karayannis 等^[14]发现 Cntnap4 敲除小鼠存在明显的自闭症状,且在电子显微镜下观察到 Cntnap4 敲除小鼠的 PSD 厚度与 WT 小鼠相比明显更小,这暗示自闭症可能与突触后致密物减少相关。

研究表明以上突触结构异常可能是突触信使 RNA 失调导致突触蛋白过表达及突触修剪缺损引起,而这可能是自闭症运动障碍及神经回路发展不正常的原因^[15-16]。

2.2 突触相关基因突变

流行病学和遗传学研究证明,自闭症是一类复杂的遗传性多基因神经精神紊乱疾病。目前发现的与自闭症发病有密切关联的多个易感基因均参与突触发生和突触可塑性等过程。

对自闭症发病机制研究中最为广泛的是 Neuroligin(以下简称 NLGN)家族。人类基因组中目前已有 5 个被证实的 NLGN 家族基因,分别是:NLGN1(3q26.31)、NLGN2(17p13.1)、NLGN3(Xq13.1)、NLGN4X(Xp22.3)及 NLGN4Y(Yq11.221)^[17]。NLGNs 编码哺乳动物大脑突触后细胞黏附因子家族,在

神经突触组成和功能上起重要作用,是兴奋性谷氨酸能突触和抑制性 γ -氨基丁酸能突触发生的主要分子,其合成失调导致脑细胞兴奋和抑制失去平衡。Yu等^[18]对NLGN家族基因和自闭症进行的关联分析显示(229例自闭症患者,189例正常对照),位于NLGN3内含子中的SNP点rs4844285有统计学意义($P=0.048$),且具性别差异性,在男性患者中相关性更显著。目前发现的与疾病相关的NLGN家族基因突变主要集中在NLGN3和NLGN4X,如NLGN3-R451C、NLGN4X-R704C、NLGN4X-R87W、NLGN4X-D396和NLGN4X-(335G>A)等。Tabuchi等^[19]通过行为学实验发现,Neuroigin3-R451C突变小鼠表现出自闭症表型相似症状,如社会交往行为下降、重复刻板行为。而对该小鼠模型研究显示,Neuroigin3-R451C突变特异性上调了囊泡GABA转运体VGAT浓度,伴有抑制性突触后蛋白如桥蛋白表达增加,增强抑制性突触传递,而造成神经网络发生功能紊乱,但同时电镜扫描大脑体感皮层揭示突触数量和结构没有较大改变,提示该基因突变仅影响突触强度。Chanda等^[20]研究发现,neuroigin3-R704C突变能增强突触后膜内NLGN3和AMPA受体的相互作用,增加AMPA受体的内化作用并降低突触后AMPA受体水平,而neuroigin4-R704C突变则提高AMPA受体介导的突触反应,损害NLGN4X正常功能,并引发模型小鼠自闭症表型。Bemben等^[21]通过分子机制研究则发现,在人类神经元细胞中内源性NLGN4X在PKC激发下在T707发生强烈的磷酸化作用,而R704C突变则可消除这种磷酸化作用;NLGN4X T707模拟磷酸化突变(T707D)导致树突状突起的显著增长,突触前膜功能性蛋白VGLUT1和后膜PSD-95表达上升,诱导突触发生,而R704C突变引起的磷酸化消除则抑制突触形成,从而影响突触传导。

Neurexins(以下简称NRXNs)也是一类细胞黏附因子家族,NRXN1是近年研究得较为广泛的自闭症易感基因之一。NRXN1特异性表达于突触前膜,与黑寡妇蜘蛛毒素(α -latrotoxin)、突触蛋白(synaptotagmins)、neuroligins等相互作用,在功能性突触发生、成熟和神经递质释放、突触囊泡入坞及靶向等神经传递过程中起重要作用^[22]。Neupert等^[23]采用单分子跟踪和实时成像技术发现细胞表面的NRXNs常富集于突触终端招募

GABAAR亚基,且NRXNs可作用于突触囊泡蛋白促进囊泡运输释放。罗三川等^[24]对313例散发自闭症患者进行NRXN1基因的突变分析,共鉴定了22个位于NRXN1外显子区域的变异,包括7个错义突变,3个缺失和12个同义突变。其中对自闭症易感基因NRXN1的3个错义突变Y315H、L933V以及I1175V研究发现,突变体蛋白降解速率较野生型有所变化,可能由此影响突触功能性,引发自闭症^[24]。Dachtler等^[25]发现,NRXN2 α 基因敲除小鼠社交和社会记忆能力缺失,伴焦虑样表型,进一步研究发现在该类模型鼠额叶皮质和海马区Stxbp1编码的Munc18-1蛋白表达量显著降低,暗示NRXNs基因缺失引起突触前膜囊泡释放不足或囊泡-前膜融合困难。

Shank3是一种富含脯氨酸的突触相关蛋白,与NLGNs相互作用,是主要的突触支架蛋白,同时与I型代谢型谷氨酸受体mGluRs相关,参与突触发育与成熟,并维持突触正常功能。研究表明,Shank3基因缺失或功能丧失后,有84%的人会患自闭症。Gauthier等在自闭症患者中发现Shank3新生突变的内含子剪切部位异常,导致转录物的异常剪接^[26]。Bozdagi等^[27]敲除小鼠Shank3基因锚蛋白复制结构域外显子后,发现小鼠出现突触功能异常,包括长时程增强效应(LTP)受损、基底神经递质减少及辐射层GluR1下降等现象,同时行为学检验出现社交行为缺陷。Buffalo大学的科学家曾提出Shank3基因对神经元传导十分重要,Shank3基因缺陷显著影响NMDA(N-甲基-D天冬氨酸)受体的激活,从而影响学习记忆功能。Duffney等^[28]发现Shank3基因缺陷改变了肌动蛋白(如丝切蛋白)调控因子的表达和活性,扰乱肌动蛋白组装平衡,破坏NMDA以及其他关键受体的传递和维护,严重影响突触的功能可塑性,从而导致小鼠社会功能缺陷。更有价值的是,Duffney等^[28]通过将丝切蛋白或其他关键调控因子的活性恢复到正常状态,可以逆转这种神经元的破坏,并恢复小鼠的社会行为,提供了一个有前景的自闭症治疗策略。

突触蛋白(Synaptotagmins, Syns)是一组与突触相关的具有神经元特异性的磷酸蛋白,通过磷酸化和非磷酸化作用来调节神经递质的释放,同时对神经元的早期发育和再生也起着重要的作用,SynI是突触蛋白的主要成员之一。Provenzano

等^[29]观察发现, 海马区同源结构域转录因子(engrailed-2, En2)敲除的 ASD 小鼠模型出现 SynI 的 mRNA 和蛋白水平降低, 这种下调伴随着 SynI 在 Ser459 和 Ser553 位点的磷酸化水平的降低, 表明该 ASD 模型的海马依赖性学习记忆损害可能与 SynI 缺陷相关。

此外, 在 4 号染色体上的 eIF4E(eukaryotic translation initiation factor 4E)基因, 可能与突触相关蛋白表达增加相关, 从而引发自闭症症状^[30]。eIF4E 基因敲除小鼠, 将会出现明显的自闭及重复行为, 并伴有内侧前额叶皮层、纹状体和海马的突触病理生理变化^[30]。Santini 等^[31]通过在 eIF4E 基因敲除小鼠脑中注射入帽依赖性翻译抑制剂 4EGI-1, 发现可明显增强 eIF4E 与 eIF4G 之间的相互作用, 使 eIF4E 敲除小鼠的帽依赖性蛋白翻译增加, 同时可改善自闭症状。COMMD1 可调节细胞内 Cu^{2+} 的含量, 从而影响 LTP 过程。Baecker 等^[32]发现, COMMD1 敲除后, 细胞内 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 含量均有所变化, 同时 ProSAP/Shank 蛋白含量均明显减少, 天冬氨酸受体亚型 1 的含量也明显下调, 因而推测兴奋性突触中的部分离子浓度变化将会影响到 ASD 的遗传型。Cyfip 1 在突触中高表达, 其含量变化将会影响突触复杂性、树棘突形态、树棘突肌动蛋白的活动性及 AMPA 受体的横向扩散^[33]。Cyfip1 杂合动物的神经元突触复杂性下降, 移动性的 F-actin 表达增加, AMPA 流动性增强^[33]。此外, 在 Cyfip1 过表达或是单倍剂量不足时, 不成熟的突触数目均有所增加^[33]。上述说明 Cyfip 1 有可能与 ASD 有着一定的相关性。Tanabe 等^[34]发现, GPR37 基因 R558Q 突变可能造成 CASPR2-MUPP1-GPR37 受体复合物受损, 与 ASD 病理过程紧密相关。

2.3 突触相关信号通路障碍

脑部通过多条信号通路支持神经传导等多项功能, 突触是不可或缺的一部分。目前有关自闭症突触相关的分子机制研究尚未透彻, 相关基因与信号通路并未完全一一对应。

Ras/Raf/ERK1/2(extracellular signal-regulated kinase)信号通路是丝裂原活化蛋白激酶家族(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)成员, 对神经前体细胞的生成、神经脊的形成和发育、突触信号传递, 以及意识、学习和记忆能力的形成有重要作用。此外, Ras/Raf/ERK1/2 信号通路

还参与介导神经细胞死亡^[35]。其基本的信号传递步骤遵循 MAPKs 的三级酶促级联反应。与正常儿童相比, 自闭症患儿脑组织中 Ras/Raf/ERK1/2 信号通路多个信号分子表达水平及活性异常上调, 提示其可能是自闭症发病的分子机制之一; 在 BTBR 模型小鼠大脑皮质及小脑组织中得到了相同结果^[35]。Yin 等^[36]发现, 在 BTBR 小鼠早期发育阶段, Ras/Raf/ERK1/2 信号通路相对于对照组 B6 小鼠上调, 而在成熟后则无明显差别, 表明早期调控 Ras/Raf/ERK1/2 信号通路对治疗自闭症表型有更大帮助。邹华等^[35]发现, 应用 Mek 抑制剂 U0126 可抑制 BTBR 小鼠大脑 Ras/Raf/ERK1/2 信号通路过度上调, 抑制 ERK1/2 活化水平, 阻碍小鼠大脑皮质区的树突棘成熟及海马 CA1 区兴奋性突触的形成, 上调海马 CA1、CA3 区 Map2 表达水平, 及海马 CA1 区、大脑皮质区 PSD 表达水平; 行为学检查发现, BTBR 小鼠社交能力及自发活动改善, 提示 Ras/Raf/ERK1/2 通路可能通过调节兴奋性/抑制性神经细胞比例、Map2、PSD 的表达, 影响突触功能, 参与自闭症的发病过程^[35]。

mGluR 信号通路对突触的形成、神经可塑性、长时程增强作用及神经保护作用有重要作用^[37]。一系列研究表明, 在自闭症患者体内的血液和脑脊液中促炎性细胞因子上升, 背外侧前额叶皮质小胶质细胞活化和增多, 证明自闭症表型可能与神经炎症相关。mGluR5 是谷氨酸能突触和小胶质细胞、星形胶质细胞的共同受体, 因此 mGluR5 在谷氨酸介导的突触可塑性和小胶质细胞等介导的神经炎症反应起到一定的联系作用, mGluR5 相关信号通路可能与抑制神经炎症反应从而缓解自闭症表型有关^[37]。大量的研究表明, mGluR-I 通过 HOMER/Shank/SAPAP/PSD-95 和 PI3K/Akt/mTOR 途径控制 AMPARs 和 NMARs 的表达, 从而影响自闭症患者的社会交往能力^[38]。其中, PTEN、FMRP 和 TSC1/2 为蛋白合成调节因子, 可调控蛋白合成, 进而影响下游通路。此外, mTOR 和 PSD-95 可能通过 TSC 相关的自噬过程影响突触修剪, 进而影响社会交往能力^[39]。Zhu 等^[40]发现, PSD-95 还可能通过与 BAI1(Brain-specific angiogenesis inhibitor 1)和 MDM2 的相互作用, 影响突触可塑性, 进而引起海马相关的空间记忆学习功能异常。另外, 当 coronin1 表达缺失时, 小鼠出现明显的社交障碍, 且 cAMP/PKA 通路异常,

Jayachandran 等^[41]推测 cAMP/PKA 途径也与自闭症病理机制相关。田允等^[42]曾提出自闭症模型大鼠内海马突触 CaMKII/SynapsinI/GluRI 信号紊乱与自闭症发病进程密切相关。

2.4 其他突触功能性变化

随着近年来人类基因组学、生物信息学的发展,人类对神经系统疾病的相关基因与遗传突变有了更深入的了解,相应基因突变研究结果应用而构建的小鼠模型也被广泛应用于实验研究。但是由于神经系统的结构和功能的复杂性,疾病引起的功能性障碍仍然是最可能被发现并最直接被研究的。

大量自闭症临床前模型发现均与谷氨酸/ γ -氨基丁酸失衡相关,同时自身免疫功能紊乱、神经炎症反应也是自闭症的疾病病因机制。El-Ansary 等^[43]发现,与正常组相比,自闭症患者体内谷氨酸浓度升高,同时 GABA 浓度升高,而谷氨酸/GABA 降低,表明自闭症患者出现谷氨酸兴奋性毒性,且患者体内表现出神经炎症反应。通过多元回归分析显示,神经炎症可能是引起 γ -氨基丁酸和谷氨酸能突触失衡的原因,从而引发发育性突触紊乱,造成自闭症^[43]。Kim 等^[44]发现,丙戊酸钠自闭症动物模型(产前暴露于 VPA 中的子代大鼠)的雄性选择性病变可能与 MECP2 调节相关,VPA 暴露模型显示雄性体内 MECP2 表达量特异性降低。在性别分离的神经祖细胞(NPC)里,高浓度 VPA 诱导升高谷氨酸能突触发育,并伴随 MECP2 表达量降低,表明 MECP2 可能调节突触发育;但在小量干扰敲除实验中,50 pmol 的 MECP2 siRNA 能抑制雄性 NPC 内 MECP2 表达但不能抑制雌性表达,提示 MECP2 可能调节自闭症特异性突触后发育的性别差异^[44]。

突触功能性异常还表现为突触可塑性变化。Gonzalez-Gronow 等^[45]研究发现通过对大鼠接种自闭症患者自身的抗髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)的 IgA 抗体,或用该抗体体外关注大鼠海马脑片,可以降低大鼠海马区突触可塑性。而该抗体在自闭症中的病理作用可能是该抗体引起脱髓鞘作用,导致突触可塑性降低。

Jasien 等^[16]在自闭症常用模型 BTBR 小鼠中研究发现,小鼠海马及皮层中的多种突触标记(PSD95, NeuN 等)相比于对照组显著增加,且与这些蛋白相关的“神经-突触可塑性调节”功能通

路也发生明显变化,突触可塑性降低。另有研究发现,自闭症模型小鼠 Fmr1 敲除小鼠与 Mecp2 敲除小鼠同样出现突触可塑性降低现象^[46-47]。小鼠模型的结果进一步补充说明了自闭症患者或小鼠存在长期或短期的突触可塑性的显著改变,而这可能是导致自闭症患者或小鼠信息处理或行为功能障碍的原因^[48]。

因此,各种因素引起的突触可塑性及神经功能障碍可能是导致自闭症的病因。

2.5 多种病因可以导致突触功能异常

目前认为,自闭症是环境因素与遗传易感性共同作用的结果。研究发现胚胎发育早期,即受精后 20~40 d 的器官形成期为自闭症发病的易感期^[35]。流行病学研究发现,自闭症的主要致病因子包括:汞、镉、镍、三氯乙烯、氯乙烯等^[49]。动物模型研究发现环境污染物引起神经系统、神经内分泌系统及行为改变,部分导致表观遗传学改变后影响下一代发育^[50]。Hagmeyer 等^[51]通过体外培养海马神经元谷氨酸能突触发现,自闭症样生物金属型材导致 NMDA 受体亚基 1 和 2a 减少,Shank3 基因表达下降,突触密度降低,提示微量金属元素稳态失衡介导神经元破坏,突触功能障碍,损害突触的形成和成熟,导致自闭症。同时实验发现补充微量金属元素锌可以缓解突触功能性受损,表明平衡锌水平可能可以成为纠正由生物金属异常所致的突触改变^[51]。再如前列腺素 E2(PGE2)对大脑发育和功能发挥起着重要作用,参与分化、突触可塑性调节和钙调节。而研究表明一些外在因素,如产前暴露于空气污染、重金属和农药,缺乏膳食补充,氧化应激,感染和炎症可在妊娠早期穿透胎盘屏障和血脑屏障,进入胎儿中枢神经系统,扰乱 PGE2 信号而引发非典型大脑发育,导致诸如自闭症的神经病症^[52]。

3 总结与展望

自闭症的病理机制存在着复杂性,这对其分子机制研究提出了巨大挑战。目前,自闭症的“突触功能障碍”假说得到广泛认可。在不同的自闭症动物模型及不同类型的自闭症患者中,突触形态学和功能障碍的变化并不完全一致,可能是由于突触修剪或是突触的发育过程受到了干扰,需根据具体病症进一步讨论研究。

自闭症是一种神经发育障碍性疾病,与多种基因表达异常相关。虽然目前针对自闭症的切实

可行的人类基因治疗仍具有很大的挑战,但若在神经环路保持完整的前提下,通过调控转录或翻译过程纠正分子功能障碍来治疗自闭症等疾病终将成为现实^[53]。如目前腺相关病毒载体技术(Adeno-associated virus, AAV)已经用于局灶性或广泛性神经中枢基因传递,在不分裂细胞内得到长期稳定表达,已证实能够在多种神经系统障碍疾病中得到良好的应用^[54]。未来自闭症治疗更可能考虑采用针对多个基因及相关信号通路的共同抑制或激活的手段,开发多靶点药物及探索更为合理的联合用药方案。故进一步了解突触形态学及功能性变化在自闭症病程中的具体机制,及基于致病机制的药物靶点探索至关重要。目前的研究结果还只揭露了冰山一角,自闭症致病基因、信号通路及病理改变之间的内在联系缺乏确切依据,未来的研究关注脑部突触的发生、发展是一个很有前景的研究方向。这一切需要依托脑基础研究的进一步发展,需要关注脑部的微小变化引起的蝴蝶效应,才能把自闭症这幅巨大的发病机制拼图整合完整。此外,自闭症与其他疾病有着一定的相关性,如30%的ASD患者伴有智力残疾(intellectual disability, ID),80%的ASD患者伴有焦虑症状,而且ASD与阿兹海默症等神经退行性疾病存在多种基因突变的相似性,而这些疾病及相关基因与突触障碍也有着密不可分的关系^[55]。未来的研究可以以ASD与其他疾病在突触功能障碍上的关联性为切入点,通过其共性与差异的比较分析来探讨ASD病理机制,或许能有更重要的发现。总之,ASD的研究仍具挑战,需要来自基础和临床的研究者们共同努力,不断揭示自闭症的病理机制,为进一步防治该病奠定理论基础。

REFERENCES

- [1] WHO. (2013). Autism spectrum disorders & other developmental disorders: From raising awareness to building capacity. ISBN: 978 92 4 150661 8
- [2] CUROTOLO P, BEN-ARI Y, BOZZI Y, et al. Synapses as therapeutic targets for autism spectrum disorders: an international symposium held in pavia on july 4th, 2014 [J]. Front Cell Neurosci, 2014(8): 309. Doi: 10.3389/fncel.2014.00309
- [3] XU X, XIONG Z, ZHANG L, et al. Variations analysis of NLGN3 and NLGN4X gene in Chinese autism patients [J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(6): 4133-4140.
- [4] BACHEVALIER J, LOVELAND K A. The orbitofrontal-amygdala circuit and self-regulation of social-emotional behavior in autism [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2006, 30(1): 97-117.
- [5] LOVELAND K A, BACHEVALIER J, PEARSON D A, et al. Fronto-limbic functioning in children and adolescents with and without autism [J]. Neuropsychologia, 2008, 46(1): 49-62.
- [6] VERPELLI C, MONTANI C, VICIDOMINI C, et al. Mutations of the synapse genes and intellectual disability syndromes [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 719(1-3): 112-116.
- [7] FIALA J C, SPACEK J, HARRIS K M. Dendritic spine pathology: cause or consequence of neurological disorders? [J]. Brain Res Rev, 2002, 39(1): 29-54.
- [8] FRANKFURT M, LUINE V. The evolving role of dendritic spines and memory: Interaction(s) with estradiol [J]. Horm Behav, 2015(74): 28-36.
- [9] PENZES P, CAHILL M E, JONES K A, et al. Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders [J]. Nat Neurosci, 2011, 14(3): 285-293.
- [10] HOLTMAAT A J, TRACHTENBERG J T, WILBRECHT L, et al. Transient and persistent dendritic spines in the neocortex *in vivo* [J]. Neuron, 2005, 45(2): 279-291.
- [11] ZUO Y, LIN A, CHANG P, et al. Development of long-term dendritic spine stability in diverse regions of cerebral cortex [J]. Neuron, 2005, 46(2): 181-189.
- [12] TANG G, GUDSNUK K, KUO S H, et al. Loss of mTOR-dependent macroautophagy causes autistic-like synaptic pruning deficits [J]. Neuron, 2014, 83(5): 1131-1143.
- [13] ISSHIKI M, TANAKA S, KURIU T, et al. Enhanced synapse remodelling as a common phenotype in mouse models of autism [J]. Nat Commun, 2014(5): 4742. Doi: 10.1038/ncomms5742.
- [14] KARAYANNIS T, AU E, PATEL J C, et al. Cntnap4 differentially contributes to GABAergic and dopaminergic synaptic transmission [J]. Nature, 2014, 511(7508): 236-240.
- [15] PIOCHON C, KLOTH A D, GRASSELLI G, et al. Cerebellar plasticity and motor learning deficits in a copy-number variation mouse model of autism [J]. Nat Commun, 2014(5): 5586. Doi: 10.1038/ncomms5586.
- [16] JASIEŃ J M, DAIMON C M, WANG R, et al. The effects of aging on the BTBR mouse model of autism spectrum disorder [J]. Front Aging Neurosci, 2014(6): 225. Doi: 10.3389/fnagi.2014.00225.
- [17] 王美钧, 柴红燕, 桂菲, 等. 自闭症病因及候选基因研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(8): 731-733.
- [18] YU J, HE X, YAO D, et al. A sex-specific association of common variants of neuroligin genes (NLGN3 and NLGN4X) with autism spectrum disorders in a Chinese Han cohort [J]. Behav Brain Func, 2011, 7(1): 1-10.
- [19] TABUCHI K, BLUNDELL J, ETHERTON M R, et al. A neuroligin-3 mutation implicated in autism increases inhibitory synaptic transmission in mice [J]. Science, 2007, 318(5847): 71-76.
- [20] CHANDA S, AOTO J, LEE S J, et al. Pathogenic mechanism of an autism-associated neuroligin mutation involves altered AMPA-receptor trafficking [J]. Mol Psychiatry, 2016, 21(2): 169-177.
- [21] BEMBEN M A, NGUYEN Q A, WANG T, et al. Autism-associated mutation inhibits protein kinase C-mediated neuroligin-4X enhancement of excitatory synapses [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(8): 2551-2556.
- [22] CHEN S H, CHENG X L, ZHOU W X, et al. Studies on neurexin family: advancement and function in synaptogenesis and synaptic transmission [J]. Chin Bull Life Sci(生命科学), 2007, 19(1): 51-56.
- [23] NEUPERT C, SCHNEIDER R, KLATT O, et al. Regulated dynamic trafficking of neurexins inside and outside of synaptic

- terminals [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(40): 13629-13647.
- [24] 罗三川. 孤独症易感基因NRXN1突变体蛋白的生物学功能研究[D]. 中南大学, 2013.
- [25] DACHTLER J, GLASPER J, COHEN R N, et al. Deletion of alpha-neurexin II results in autism-related behaviors in mice [J]. *Trans Psychiatry*, 2014(4): e484.
- [26] GAUTHIER J, SPIEGELMAN D, PITON A, et al. Novel de novo SHANK3 mutation in autistic patients [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2009, 150B(3): 421-424.
- [27] BOZDAGI O, SAKURAI T, PAPAPETROU D, et al. Haploinsufficiency of the autism-associated Shank3 gene leads to deficits in synaptic function, social interaction, and social communication [J]. *Mol Autism*, 2010, 1(1): 15. Doi: 10.1186/2040-2392-1-15
- [28] DUFFNEY L J, ZHONG P, WEI J, et al. Autism-like deficits in Shank3-deficient mice are rescued by targeting actin regulators [J]. *Cell Report*, 2015, 11(9): 1400-1413.
- [29] PROVENZANO G, PANGRAZZI L, POLI A, et al. Reduced phosphorylation of synapsin I in the hippocampus of Engrailed-2 knockout mice, a model for autism spectrum disorders [J]. *Neuroscience*, 2015(286): 122-130.
- [30] KELLECHER R J, 3rd, BEAR M F. The autistic neuron: troubled translation [J]. *Cell*, 2008, 135(3): 401-406.
- [31] SANTINI E, HUYNH T N, MACASKILL A F, et al. Exaggerated translation causes synaptic and behavioural aberrations associated with autism [J]. *Nature*, 2013, 493(7432): 411-415.
- [32] BAECKER T, MANGUS K, PFAENDER S, et al. Loss of COMMD1 and copper overload disrupt zinc homeostasis and influence an autism-associated pathway at glutamatergic synapses [J]. *Biometals*, 2014, 27(4): 715-730.
- [33] PATHANIA M, DAVENPORT E C, MUIR J, et al. The autism and schizophrenia associated gene CYFIP1 is critical for the maintenance of dendritic complexity and the stabilization of mature spines [J]. *Transl Psychiatry*, 2014(4): e374. Doi: 10.1038/tp.2014.16.
- [34] TANABE Y, FUJITA-JIMBO E, MOMOI M Y, et al. CASPR2 forms a complex with GPR37 via MUPP1 but not with GPR37(R558Q), an autism spectrum disorder-related mutation [J]. *J Neurochem*, 2015, 134(4): 783-793.
- [35] ZOU H, YU Y, SHEIKH A M, et al. Association of upregulated Ras/Raf/ERK1/2 signaling with autism [J]. *Genes Brain Behav*, 2011, 10(5): 615-624.
- [36] YIN A, QIU Y, JIA B, et al. The developmental pattern of the RAS/RAF/Erk1/2 pathway in the BTBR autism mouse model [J]. *Int J Dev Neurosci*, 2014(39): 2-8.
- [37] ZANTOMIO D, CHANA G, LASKARIS L, et al. Convergent evidence for mGluR5 in synaptic and neuroinflammatory pathways implicated in ASD [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2015(52): 172-177.
- [38] O'CONNOR E C, BARISELLI S, BELLONE C. Synaptic basis of social dysfunction: a focus on postsynaptic proteins linking group-I mGluRs with AMPARs and NMDARs [J]. *Eur J Neurosci*, 2014, 39(7): 1114-1129.
- [39] TANG G, GUÐSNUK K, KUO S H, et al. Loss of mTOR-dependent macroautophagy causes autistic-like synaptic pruning deficits [J]. *Neuron*, 2014, 83(5): 1131-1143.
- [40] ZHU D, LI C, SWANSON A M, et al. BAI1 regulates spatial learning and synaptic plasticity in the hippocampus [J]. *J Clin Investigat*, 2015, 125(4): 1497-1508.
- [41] JAYACHANDRAN R, LIU X, BOSEDASGUPTA S, et al. Coronin 1 regulates cognition and behavior through modulation of cAMP/protein kinase A signaling [J]. *PLoS Biol*, 2014, 12(3): e1001820.
- [42] 田允, 张程, 廖美华, 等. 基于海马神经元突触 CaMK II /Synapsin I /GluR1 信号紊乱的自闭症发病机制[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2012, 27(3): 451.
- [43] EI-ANSARY A, AI-AYADHI L. GABAergic/glutamatergic imbalance relative to excessive neuroinflammation in autism spectrum disorders [J]. *J Neuroinflamm*, 2014(11): 189. Doi: 10.1186/s12974-014-0189-0.
- [44] KIM K C, CHOI C S, KIM J W, et al. MeCP2 modulates sex differences in the postsynaptic development of the valproate animal model of autism [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(1): 40-56.
- [45] GONZALEZ-GRONOW M, CUCHACOVICH M, FRANCOS R, et al. Catalytic autoantibodies against myelin basic protein (MBP) isolated from serum of autistic children impair *in vitro* models of synaptic plasticity in rat hippocampus [J]. *J Neuroimmunol*, 2015(287): 1-8.
- [46] MORETTI P, LEVENSON J M, BATTAGLIA F, et al. Learning and memory and synaptic plasticity are impaired in a mouse model of Rett syndrome [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(1): 319-327.
- [47] MACLEOD L S, KOGAN C S, COLLIN C A, et al. A comparative study of the performance of individuals with fragile X syndrome and Fmr1 knockout mice on Hebb-Williams mazes [J]. *Gene Brain Behav*, 2010, 9(1): 53-64.
- [48] CRABTREE G W, GOGOS J A. Synaptic plasticity, neural circuits, and the emerging role of altered short-term information processing in schizophrenia [J]. *Front Synaptic Neurosci*, 2014(6): 28. Doi: 10.3389/fnsyn.2014.00028.
- [49] DUFOUR-RAINFRAY D, VOURC'H P, TOURLET S, et al. Fetal exposure to teratogens: evidence of genes involved in autism [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2011, 35(5): 1254-1265.
- [50] SPENCE S J, CANTOR R M, CHUNG L, et al. Stratification based on language-related endophenotypes in autism: attempt to replicate reported linkage [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2006, 141B(6): 591-598.
- [51] HAGMEYER S, MANGUS K, BOECKERS T M, et al. Effects of trace metal profiles characteristic for autism on synapses in cultured neurons [J]. *Neural Plast*, 2015: 985083. Doi: 10.1155/2015/985083
- [52] WONG C T, WAIS J, CRAWFORD D A. Prenatal exposure to common environmental factors affects brain lipids and increases risk of developing autism spectrum disorders [J]. *Eur J Neurosci*, 2015, 42(10): 2742-2760.
- [53] SZTAINBERG Y, CHEN H M, SWANN J W, et al. Reversal of phenotypes in MECP2 duplication mice using genetic rescue or antisense oligonucleotides [J]. *Nature*, 2015, 528(7580): 123-126.
- [54] GRAY S J. Gene therapy and neurodevelopmental disorders [J]. *Neuropharmacology*, 2013(68): 136-142.
- [55] PENZES P, CAHILL M E, JONES K A, et al. Dendritic spine pathology in neuropsychiatric disorders [J]. *Nat Neurosci*, 2011, 14(3): 285-293.

收稿日期: 2015-10-15