

· 精神分裂症专题 ·

组蛋白赖氨酸甲基转移酶1(EZH1)对精神分裂症诱导的社会和动机行为失调的影响

董翔 廖东升 赵顺成 高艳红

810007 西宁,青海省第三人民医院精神科(董翔、廖东升、赵顺成); 810008 西宁,青海省交通医院内分泌科(高艳红、青海)

通信作者:董翔, Email: dongxiang_197812@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2019.03.008

【摘要】目的 探讨组蛋白赖氨酸甲基转移酶(EZH)1对精神分裂症及其导致的行为失调的影响。**方法** 选择70只C57BL/6小鼠进行以下实验:(1)采用实时定量PCR及Western Blot检测小鼠各脑区及脏器中EZH1和EZH2的表达。(2)小鼠给予腹腔注射3 mg/kg的盐酸喹吡罗建立精神分裂症动物模型,对照组给予等体积的生理盐水。给药后10 min检测小鼠前额叶皮质(PFC)中组蛋白修饰相关蛋白的表达。(3)分别给予小鼠腹腔注射5 mg/kg的氯氮平或0.5 mg/kg的氟哌啶醇,对照组注射等体积的生理盐水。21 d后检测PFC中EZH1和EZH2的表达。(4)采用立体定位注射AAV-m-EZH1-shRNA至小鼠内侧PFC中以敲减EZH1,对照组注射干扰shRNA,2周后检测小鼠的行为学指标。**结果** (1)EZH1在小鼠的前额叶皮质、海马、大脑皮层、皮层下、小脑和脑干等脑区中高表达,但在心脏、肾脏、肝脏、肺、胃和肠等脏器中呈低表达。EZH2在除小脑外的各脑区及脏器中低表达。(2)在急性注射喹吡罗后,PFC中EZH1的表达显著增加(均 $P < 0.05$),而EZH2、KDM6A、KDM6B及UTY的表达无显著变化(均 $P > 0.05$)。(3)与腹腔注射生理盐水的小鼠对比,注射氯氮平和氟哌啶醇的小鼠PFC中EZH1表达显著降低(均 $P < 0.05$),而EZH2的表达无显著变化($P > 0.05$)。(4)在社交能力测试中,EZH1敲减可增加小鼠在陌生鼠笼的停留时间及对陌生鼠的嗅探时间(均 $P < 0.05$)。在强迫游泳试验中,EZH1敲减降低小鼠的不动时间,增加游泳时间(均 $P < 0.05$)。**结论** EZH1在小鼠各个脑区中高表达,在喹吡罗诱导的精神分裂症小鼠PFC中高表达,且对抗精神病药物极敏感。EZH1敲减可增加小鼠的社交能力,降低绝望行为。

【关键词】 精神分裂症; EZH1; 表观遗传调节因子; 社会行为; 动机行为

Histone lysine methyltransferase (EZH) 1's effect on social and motivational behavioral disorders induced by schizophrenia Dong Xiang, Liao Dongsheng, Zhao Shuncheng, Gao Yanhong
Department of Psychiatry, the Third People's Hospital of Qinghai Province, Xining 810007, China (Dong X, Liao DS, Zhao SC); Department of Endocrinology, Qinghai Jiaotong Hospital, Xining 810008, China (Gao YH)
Corresponding author: Dong Xiang, Email: dongxiang_197812@163.com

【Abstract】 Objectives This study focused on the effect of histone lysine methyltransferase (EZH) 1 on schizophrenia and its associated behavioral disorders. **Methods** Seventy C57BL/6 mice were chosen to the following four experiments. (1) Expressions of EZH1 and EZH2 in brain regions and organs of mice were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) and Western Blot. (2) Mice were given an intraperitoneal injection with 3 mg/kg quinpirole hydrochloride to establish an animal model of schizophrenia, and the control group was given an equal volume of physiological saline. The expressions of histone modification-related proteins in the prefrontal cortex (PFC) of mice were measured at 10 min after administration. (3) Mice were given intraperitoneal injection with 5 mg/kg of clozapine or 0.5 mg/kg of haloperidol, and the control group was injected with an equal volume of physiological saline. The expressions of EZH1 and EZH2 in PFC was measured at 21 days after injection. (4) AAV-m-EZH1-shRNA was injected into the medial PFC of the mice to knock down EZH1, and the control group was injected with interfering shRNA. The behaviors of the mice were measured at 2 weeks after injection. **Results** (1) EZH1 is highly expressed in the brain regions including the prefrontal cortex, hippocampus, cerebral cortex, subcortical, cerebellum and brainstem, but is low expressed organs including the heart, kidney, liver, lung, stomach and intestines. EZH2 was low expressed in various brain

regions and organs except the cerebellum. (2)After acute injection of quinpirole, the expression of EZH1 in PFC significantly increased ($P < 0.05$), while the expressions of EZH2, KDM6A, KDM6B and UTY did not significantly change ($P > 0.05$). (3)Compared with mice injected with saline, the expression of EZH1 in PFC of mice injected with clozapine and haloperidol significantly decreased ($P < 0.05$), while the expression of EZH2 did not significantly changed ($P > 0.05$). (4)In the social ability test, EZH1 knockdown increased the time for mice to spend in new cages and to sniff strange mice ($P < 0.05$). In the forced swimming test, EZH1 knockdown reduced the immobility time of the mice and increased the swimming time in mice ($P < 0.05$).

Conclusions EZH1 is highly expressed in various brain regions of mice, especially in PFC of quinpirole-induced schizophrenia mice. EZH1 is extremely sensitive to antipsychotic drugs, and its knockdown increases the social ability and reduces behavioral despair of mice.

【Key words】 Schizophrenia; EZH1; Epigenetic regulator; Social behavior; Motivational behavior

精神分裂症是由一组症状群所组成的临床综合征,在临床上主要表现为感知觉、思维、情感、意志和行为、认知功能等多方面障碍^[1]。目前对于精神分裂症的诊断主要是基于行为观察、问诊及与患者相熟人员对患者的描述,以及对一些精神分裂症相关生物标记物的检测^[2]。抗精神病药物治疗是精神分裂症治疗的首选措施,但仍有10%~30%的患者治疗无效^[3-4]。

目前对精神分裂症病因的认识尚不明确,但环境及遗传因素对其发生发展的作用已被大家所共识^[4-5]。关于精神分裂症发病机制的假说认为,精神分裂症是一种以突触连接失调为特征的神经发育障碍类疾病^[6]。但是产前并发症、滥用药物以及早期创伤等环境因素对精神分裂症的发展也具有明显的作用^[7]。目前的观点表明精神分裂症的发展主要由遗传变异与对环境敏感的表现遗传变化协同作用,后者可通过翻译后修饰组蛋白尾部和甲基化DNA来调节基因转录^[8]。因此,阐明这种表现遗传机制对于理解精神分裂症病理生理学至关重要。本研究主要探讨组蛋白赖氨酸甲基转移酶(EZH)1作为一种抗精神病药敏感的表现遗传调节因子在调控精神分裂症行为失调方面的作用。

一、材料与方法

1. 实验动物:70只11周龄健康C57BL/6小鼠(雌:15只,雄:55只)购自青海生物药品厂,许可证号为SYXK(青)2017-0001。所有小鼠分笼饲养在动物房,维持温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度为45%~55%,12 h/12 h光照黑暗交替循环,自由饮食饮水。

2. 各脑区及脏器中EZH表达的分析:取6只小鼠,雌雄各半,断头处死,采用实时定量PCR及Western Blot检测脑及各脏器中EZH1和EZH2的表达。

3. 组蛋白修饰相关蛋白表达的分析:取20只雄性小鼠,随机分为2组:对照组和喹吡罗组,每组各

10只。喹吡罗组小鼠腹腔注射3 mg/kg的盐酸喹吡罗(选择性D2受体激动剂),对照组腹腔注射等体积的生理盐水。在给药后10 min断头处死小鼠,采用实时定量PCR及Western Blot检测前额叶皮质(PFC)中H3K27组蛋白甲基转移酶(EZH1和EZH2)和H3K27组蛋白去甲基化酶(KDM6A、KDM6B和UTY)的表达。

4. EZH对抗精神药的敏感性分析:取24只小鼠,分为3组,每组8只(雌雄各半)。第一组小鼠给予腹腔注射5 mg/kg的氟氮平,第二组小鼠腹腔注射0.5 mg/kg的氟哌啶醇,第三组小鼠腹腔注射等体积的生理盐水。各组均每天注射一次,持续21 d。之后断头处死,采用实时定量PCR及Western Blot检测PFC中EZH1和EZH2的表达。

5. 行为学分析:另取20只雄性小鼠,随机分为2组:对照组和EZH1敲减组,每组各10只。将小鼠麻醉后,采用立体定位注射AAV-m-EZH1-shRNA(3.6×10^{12} GC/ml,美国Vector Biolabs公司)至内侧PFC中,双侧均注射,共2个位点,坐标为:(1)第一位点, x: +2.7 mm, y: 0.4 mm, z: -1.5 mm; (2)第二位点, x: +1.9 mm, y: 0.4 mm, z: -2.5 mm。1 μl 病毒的推进速度为0.33 $\mu\text{l}/\text{min}$ 。EZH1 shRNA的序列为5'-CCGGCATCGAAGAGCTGATCAATAACTCGAGTTATTGATCAGCTCTTCGATGTTTTTG-3'。对照组在同样条件下注射AAV1-GFP-U6-shRNA干扰shRNA。注射2周后,2组小鼠进行行为学检测。(1)旷野实验:将实验小鼠置于80 cm \times 80 cm \times 50 cm正方形旷场中,记录小鼠在旷场内5 min的行为表现。采用“行为跟踪分析系统”记录水平活动距离,直立次数为观察记录。水平运动得分反映小鼠的兴奋性,直立次数反映小鼠对环境的适应度。(2)社会交往能力测试:采用三箱测试小鼠的社会交往行为。测试区域由3个相邻的箱体组成(100 cm \times 40 cm \times 40 cm),

中间用2个有机玻璃分隔,并通过开放的门道使三箱联通。测试鼠先对三箱环境适应10 min。测试过程中,在左箱中放入空笼,同时右箱的笼中放入同性幼年陌生鼠,然后将测试鼠迅速放在中间箱,通过Ethovision软件记录测试鼠第一次进入陌生鼠笼的潜伏期以及在陌生鼠笼附近2 cm区域内的嗅探时间及嗅探频率。(3)Porsolt强迫游泳试验:采用Porsolt强迫游泳试验检测小鼠的动机行为。将实验小鼠单独放置在充满水[水温(25±2)℃]的圆柱形(直径24 cm,高15 cm)中,游泳6 min,采用摄像系统记录小鼠在后4 min游泳内的不动时间、游泳时间及逃跑时间。不动时间指小鼠在水中停止挣扎呈漂浮状态,或者仅有细小的肢体运动以保持头部在水面上。逃跑时间指小鼠在圆柱形壁上使劲攀爬的时间。

6. 实时定量PCR:采用Trizol试剂从各组织中提取总RNA,采用M-MLV反转录酶合成cDNA第一链,SYBR Green进行PCR扩增。试剂盒均购自上海碧云天公司。引物由Primer designing tool在线软件设计,由上海生工生物工程股份有限公司合成。GAPDH为内参,见表1。

7. Western Blot:采用RIPA试剂提取各组织中的总蛋白,BCA试剂盒进行蛋白定量。采用10% SDS-PAGE凝胶分离总蛋白,转膜后用5%的胎牛血清封闭45 min,一抗于37℃孵育4 h或者于4℃过夜,辣根过氧化物酶标记的二抗(1:10 000)于室温摇床孵育1 h,ECL暗室发光。采用凝胶成像系统和Quantity One 4.6.2软件(美国Bio-Rad公司)进行条带的统计和分析。试剂盒均购自上海碧云天公司。一抗购自美国Abcam公司,EZH1抗体(1:800)、EZH2抗体(1:1 000)、KDM6A抗体(1:1 000)、KDM6B抗体(1:600)、UTY抗体(1:200)和内参GAPDH(1:5 000)。

8. 统计学方法:采用SPSS 19.0软件进行数据的统计分析。所有数据均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,LSD多重比较。两组间比较采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统

计学意义。

二、结果

1. EZH在脑及其他各脏器中的分布:见图1,表2。EZH1 mRNA和蛋白在小鼠的PFC、海马、大脑皮层、皮层下、小脑和脑干等脑区中高表达,但在心脏、肾脏、肝脏、肺、胃和肠等脏器中呈低表达。EZH2 mRNA和蛋白在小鼠小脑中呈高表达,在其他脑区及脏器中的表达无规律可循,但总体来讲表达较低。

2. 组蛋白修饰相关蛋白在精神分裂症小鼠PFC中的表达:见表3。与对照组比较,PFC中EZH1 mRNA和蛋白的表达在急性注射喹吡罗后显著增加(均 $P < 0.05$),而EZH2、KDM6A、KDM6B及UTY mRNA和蛋白的表达差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

3. EZH对抗精神药敏感性分析:见表4。与腹腔注射生理盐水的小鼠对比,腹腔注射5 mg/kg氯氮平和0.5 mg/kg氟哌啶醇的小鼠PFC中EZH1 mRNA和蛋白的表达显著降低(P 均 < 0.05),而EZH2 mRNA和蛋白的表达差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。

4. EZH1敲减对小鼠社会和动机行为的影响:见图2、3。EZH1敲减组PFC中EZH1 mRNA和蛋白的表达均显著低于对照组(图2A和2B, $P < 0.05$)。在旷野实验中,与对照组比较,EZH1敲减组小鼠的水平运动总距离和垂直运动次数差异无统计学意义(图3A, P 均 < 0.05)。在社交能力测试试验中,对照组测试鼠第一次进入陌生鼠笼的时间显著高于进入空笼的时间(图3B, $P < 0.05$),而EZH1敲减组测试鼠第一次进入陌生鼠笼的时间显著低于进入空笼的时间(图3B, $P < 0.05$)。对照组测试鼠在陌生鼠笼中的滞留时间和对陌生鼠的嗅探时间与空笼对比差异无统计学意义(图3B,均 $P > 0.05$),而EZH1敲减组测试鼠在陌生鼠笼中的滞留时间和对陌生鼠的嗅探时间显著高于空笼(图3B,均 $P < 0.05$)。对照组测试鼠对陌生鼠笼的嗅探频率显著低于对空笼的嗅探频率(图3B, $P < 0.05$),而EZH1敲减组测试鼠

表1 引物序列

基因	上游引物(5' -3')	下游引物(5' -3')
EZH1	TCCATGAGGAAAATGGATATAGCA	CTTGTTACCGGCAGGTCTCTC
EZH2	TCCATGCAACACCCAACACA	AGCAGTAAGAGCAGCAGCAA
KDM6A	CCTCCATTACCATCCGCCTC	AGACTCCTGGCATAGGAGCA
KDM6B	TCTGCTGTAACCCACTGCTG	CAGTCTCTGGCCTTCTGCAA
UTY	GCGGATGCTAGCGAAGTTTG	CGGGCTAAGAACCCGAAGAA
GAPDH	ATGAGAGAGGCCAGCTACT	ACTGTGCCGTTGAATTTGCC

对陌生鼠笼的嗅探频率与空笼组差异无统计学意义(图3B, $P > 0.05$)。在强迫游泳实验中,与对照组相比, EZH1 敲减组小鼠的不动时间显著降低($P < 0.05$), 游泳时间显著增加($P < 0.05$), 而逃跑时间差异无统计学意义(图3C, $P > 0.05$)。

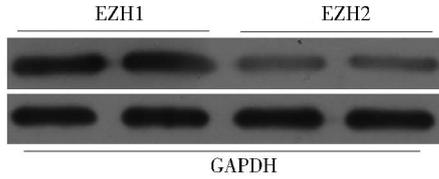


图1 EZH1 蛋白和 EZH2 蛋白在前额叶皮质中的表达

表2 EZH 在脑及其他各脏器中的分布情况($n=6$, /GAPDH, $\bar{x} \pm s$)

组织部位	EZH1		EZH2	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
前额叶皮质	0.72 ± 0.16	0.95 ± 0.17	0.21 ± 0.05	0.25 ± 0.05
海马	0.79 ± 0.14	1.19 ± 0.23	0.38 ± 0.09	0.48 ± 0.09
大脑皮层	0.74 ± 0.15	0.91 ± 0.17	0.22 ± 0.05	0.20 ± 0.05
皮层下	0.59 ± 0.12	0.86 ± 0.16	0.19 ± 0.04	0.27 ± 0.06
小脑	0.88 ± 0.16	1.23 ± 0.21	0.70 ± 0.13	0.91 ± 0.16
脑干	0.63 ± 0.11	0.92 ± 0.17	0.44 ± 0.06	0.56 ± 0.10
心脏	0.19 ± 0.06	0.25 ± 0.08	0.15 ± 0.06	0.19 ± 0.07
肾脏	0.17 ± 0.05	0.28 ± 0.07	0.11 ± 0.03	0.09 ± 0.02
肝脏	0.02 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01
肺	0.10 ± 0.04	0.13 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.03
胃	0.09 ± 0.03	0.18 ± 0.01	0.29 ± 0.06	0.52 ± 0.10
肠	0.12 ± 0.05	0.12 ± 0.02	0.33 ± 0.08	0.50 ± 0.13
F 值	59.92	67.86	50.80	55.47
P 值	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

注:以表达量的平均值 > 0.5 为高表达,以表达量的平均值 < 0.5 为低表达

表3 组蛋白修饰蛋白在喹吡罗诱导的精神分裂症小鼠 PFC 中的表达(/GAPDH, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	mRNA				
		H3K27 组蛋白甲基转移酶		H3K27 组蛋白去甲基化酶		
		EZH1	EZH2	KDM6A	KDM6B	UTY
对照组	10	0.76 ± 0.28	0.24 ± 0.04	0.37 ± 0.07	0.20 ± 0.04	0.04 ± 0.02
喹吡罗组	10	1.02 ± 0.22	0.26 ± 0.06	0.40 ± 0.05	0.22 ± 0.03	0.06 ± 0.03
t 值		2.283	0.866	1.112	1.372	2.053
P 值		0.034	0.397	0.280	0.186	0.054

组别	例数	蛋白				
		H3K27 组蛋白甲基转移酶		H3K27 组蛋白去甲基化酶		
		EZH1	EZH2	KDM6A	KDM6B	UTY
对照组	10	0.95 ± 0.32	0.29 ± 0.06	0.41 ± 0.04	0.19 ± 0.06	0.09 ± 0.02
喹吡罗组	10	1.39 ± 0.403	0.28 ± 0.06	0.43 ± 0.06	0.16 ± 0.05	0.11 ± 0.04
t 值		2.720	0.382	0.927	1.222	1.499
P 值		0.014	0.707	0.366	0.237	0.150

讨论 动物模型是探讨精神疾病发病机制及治疗的理想模式。精神分裂症的常见动物模型主要为利用感觉运动门控理论而建立的听觉诱发电位 P50 和惊反射的前脉冲抑制(prepulse inhibition, PPI) [9]。由于惊反射的 PPI 实际上是通过运动系统的活动来反映脑内对信息加工的激活过程,是一种保护机制,而这种保护机制是各哺乳动物种系所共有的,并可体现在行为水平上,因此惊反射的 PPI 是建立精神分裂症动物模型的常用手段 [10]。常用于产生动物 PPI 缺失的方法有两种:早期应激神经回路和脑内神经介质传导活动的药物性调节 [9]。多巴胺激动剂、耗竭 PFC 的多巴胺以及谷氨酸拮抗剂均可破坏 PPI [11], 其中多巴胺激动剂阿扑吗啡或选择性 D₂ 受体激动剂喹吡罗可通过激活小鼠伏隔核内 D₂ 受体产生与精神分裂症 PPI 损害相似的结果 [12]。

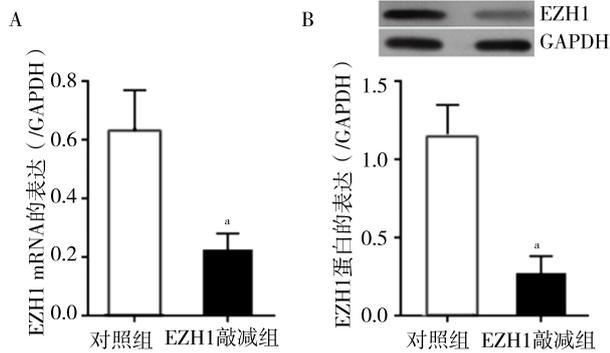
国内邹利等 [13] 对小鼠腹腔注射 3 mg/kg 的盐酸喹吡罗,在注射 10 min 后 PPI 由注射前的基础值 (45.24 ± 10.11)% 降至 (14.78 ± 6.14)% (约 67% 左右),但在注射 24 h 后 PPI 值与基础值相比无显著变化。表明急性给予喹吡罗可显著降低小鼠 PPI,可在短期内作为诱导精神分裂症动物模型的方式。因此,本研究复制邹利等的动物模型,研究精神分裂症小鼠 PFC 中参与组蛋白翻译后修饰的相关蛋白的表达,结果显示,在 H3K27 组蛋白甲基转移酶(EZH1 和 EZH2) 以及 H3K27 组蛋白去甲基化酶(KDM6A、KDM6B 和 UTY) 中,只有 EZH1 的表达在急性注射喹吡罗后显著增加,而其他蛋白无显著变化。表明 EZH1 的降低参与精神分裂症的发生发展过程。

此外,本研究发现 EZH1 在小鼠的 PFC、海马、

表4 EZH1对抗精神药的敏感性分析($n=8$, /GAPDH, $\bar{x} \pm s$)

药物	EZH1		EZH2	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
生理盐水	0.85 ± 0.15	1.05 ± 0.18	0.26 ± 0.05	0.28 ± 0.05
氯氮平	0.63 ± 0.15 ^a	0.78 ± 0.24 ^a	0.24 ± 0.06	0.26 ± 0.06
氟哌啶醇	0.60 ± 0.10 ^a	0.63 ± 0.20 ^a	0.21 ± 0.04	0.30 ± 0.06
<i>F</i> 值	8.012	8.932	1.891	1.050
<i>P</i> 值	0.003	0.002	0.176	0.368

注:与生理盐水比较, ^a $P < 0.05$



注:与对照组比较, ^a $P < 0.05$

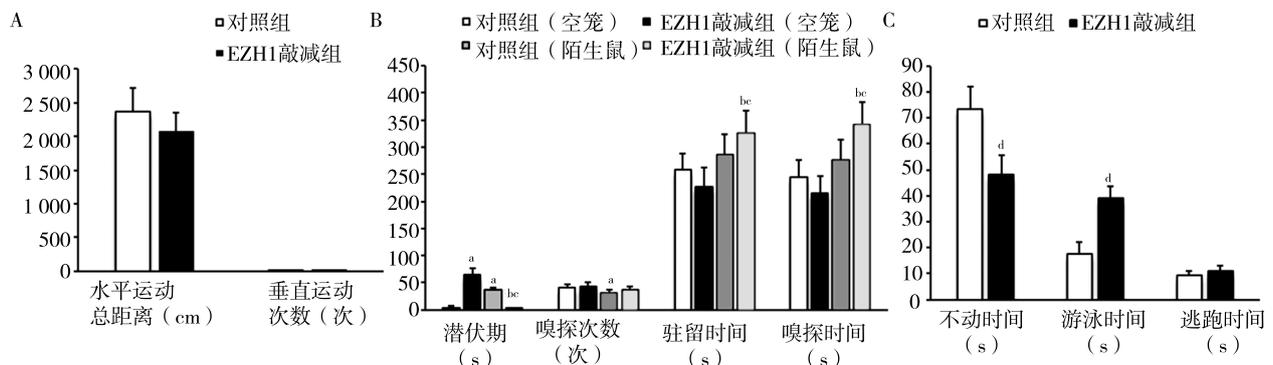
图2 EZH1敲减对小鼠EZH1 mRNA和蛋白表达的影响

大脑皮层、皮层下、小脑和脑干等脑区中高表达,但在心脏、肾脏、肝脏、肺、胃和肠等脏器中呈低表达。而EZH2只在小鼠小脑中呈高表达,在其他脑区及脏器中的表达无规律可循且表达较低。对成年人PFC组织中EZH表达的研究也得到了类似的结果, EZH1在PFC中高表达,而EZH2的在人脑发育过程中其表达快速降低^[14]。EZH1与EZH2基因总序列的保守性为65%,是已知的唯一的H3K27甲基转移酶。EZH1和EZH2均可作为多梳抑制复合物2(PRC2)的核心催化元件,通过介导组蛋白H3K27甲基化和恢复DNA甲基化酶活性而沉默多种基因^[15]。而且

由EZH1和EZH2调节的基因完全重叠,且EZH1可在功能上补偿EZH2的消耗^[16]。因此,在EZH2低表达的成人PFC中, EZH1可能主要起H3K27甲基转移酶的作用。当然重要的是要认识到EZH1可通过几种不同的机制来调节基因表达,包括通过识别相邻组蛋白上的H3K27me3参与染色质压缩和募集RNA聚合酶II以激活成熟神经元中的基因转录^[17]。因此, EZH1介导的转录效应可用于将来对脑中EZH1替代机制的探讨。

尽管EZH1在成人及小鼠大脑中富集,但其神经生物学功能在很大程度上仍未彻底阐明。临床、病理学、啮齿动物和遗传学研究已广泛涉及多巴胺和谷氨酸信号传导功能障碍是精神分裂症的致病因素。抗精神病药物的一个共同特征是阻断多巴胺D2受体。研究表明, PRC2缺失可显著降低中型多棘神经元中编码多巴胺D1/D2受体的DRD1和DRD2基因的表达^[18],而EZH1作为PRC2的核心催化元件,可能也通过PRC2调控多巴胺受体,进而影响精神分裂症和治疗反应中的基因表达变化。本研究也通过对EZH的抗精神药敏感性分析显示,当小鼠给予腹腔注射5 mg/kg氯氮平和0.5 mg/kg氟哌啶醇后, PFC中EZH1的表达显著降低,而EZH2的表达变化不显著。提示EZH1对抗精神药药的敏感性强,可能参与精神分裂症与治疗反应。而EZH2对抗精神药药的不敏感可能与其在PFC中的低表达有关。

EZH1对PFC中基因转录调控的表型为PFC功能相关的各种复杂行为的改变,包括焦虑、动机、成瘾行为和学习等^[19]。本研究显示, EZH1敲减可增加小鼠的社交能力,降低小鼠的绝望行为。暗示



注: A 旷野实验, 两组比较, 均 $P > 0.05$; B 社交能力测试, 与对照组(空笼)比较, ^a $P < 0.05$; 与EZH1敲减组(空笼)比较, ^b $P < 0.05$; 与对照组(陌生鼠)比较, ^c $P < 0.05$; 潜伏期指测试鼠第一次进入鼠笼中的时间, 驻留时间指测试鼠在鼠笼中的累计停留时间; C 强迫游泳实验, 与对照组比较, ^d $P < 0.05$

图3 EZH1敲减对小鼠行为学指标的影响($n=10$)

EZH1 可导致社交退缩及绝望行为,这是精神分类症消极症状的核心特征。而EZH1 敲减可提高社会参与,降低绝望行为,因此EZH1 有望成为治疗精神分裂症的新靶点。本研究只是初步探讨EZH1 在由PFC介导的执行功能中的重要作用,但鉴于EZH1 在各个脑区中分布广泛且高表达,因此对于H3K27 甲基转移酶EZH1 对神经元的功能以及在精神疾病相关的神经病理学变化中的作用还需要进一步深入探讨,以便更好地了解精神分裂症的病理过程,为其预防和治疗提供理论基础。

总之, H3K27 甲基转移酶EZH1 在小鼠各个脑区中高表达。与其同源物EZH2 不同, EZH1 在喹吡罗诱导的精神分裂症小鼠PFC中高表达,且对抗精神药物极敏感。EZH1 敲减可增加小鼠的社交能力,降低绝望行为。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 文章构思及试验设计为董翔, 实验操作为董翔、廖东升、赵顺成、高艳红, 数据统计为董翔、廖东升, 绘制图表为董翔、廖东升、赵顺成, 论文撰写为董翔, 论文修订为廖东升、高艳红

参 考 文 献

- [1] Baier M. Insight in schizophrenia: a review[J]. *Curr Psychiatry Rep*, 2010, 12(4): 356-361. DOI: 10.1007/s11920-010-0125-7.
- [2] Perkovic MN, Erjavec GN, Strac DS, et al. Theranostic Biomarkers for Schizophrenia[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(4): pii: E733. DOI: 10.3390/ijms18040733.
- [3] Kane JM, Correll CU. Pharmacologic treatment of schizophrenia [J]. *Dialogues Clin Neurosci*, 2010, 12(3): 345-357. DOI: 10.1016/S0006-3223(99)00059-1.
- [4] Owen MJ, Sawa A, Mortensen PB. Schizophrenia[J]. *Lancet*, 2016, 388(10039): 86-97. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01121-6.
- [5] Kavanagh DH, Tansey KE, O'Donovan MC, et al. Schizophrenia genetics: emerging themes for a complex disorder[J]. *Mol Psychiatry*, 2015, 20(1): 72-76. DOI: 10.1038/mp.2014.148.
- [6] Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence[J]. *Mol Psychiatry*, 2005, 10(1): 40-68, image 5. DOI: 10.1038/sj.mp.4001558.
- [7] Heim C, Shugart M, Craighead WE, et al. Neurobiological and psychiatric consequences of child abuse and neglect[J]. *Dev Psychobiol*, 2010, 52(7): 671-690. DOI: 10.1002/dev.20494.
- [8] Zahir FR, Brown CJ. Epigenetic impacts on neurodevelopment: pathophysiological mechanisms and genetic modes of action [J]. *Pediatr Res*, 2011, 69(5 Pt 2): 92R-100R. DOI: 10.1203/PDR.0b013e318213565e.
- [9] Geyer MA, Krebs-Thomson K, Braff DL, et al. Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2001, 156(2/3): 117-154. DOI: 10.1007/s002130100811.
- [10] Oranje B, Gispens-de Wied CC, Verbaten MN, et al. Modulating sensory gating in healthy volunteers: the effects of ketamine and haloperidol[J]. *Biol Psychiatry*, 2002, 52(9): 887-895. DOI: 10.1016/S0006-3223(02)01377-X.
- [11] 陈兴时, 王红星, 张明岛. 感觉运动门控理论和精神分裂症动物模型的研究进展[J]. *中华精神科杂志*, 2006, 39(4): 247-249. DOI: 10.3760/j.issn:1006-7884.2006.04.024.
- [12] Young KA, Randall PK, Wilcox RE. Startle and sensorimotor correlates of ventral thalamic dopamine and GABA in rodents[J]. *Neuroreport*, 1995, 6(18): 2495-2499. DOI: 10.1097/00001756-199512150-00013.
- [13] 邹利, 阳玉洁, 曾佩, 等. 喹吡罗降低C57BL/6J小鼠的预先弱刺激抑制和间隙预刺激抑制[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2018, 39(9): 146-149. DOI: 10.7652/jdyxb201801031. Zhou L, Yang YJ, Zeng P, et al. Quinpirole reduces pre-weak stimulation inhibition and gap pre-stimulation inhibition in C57BL/6J mice[J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University(Medical Sciences)*, 2018, 39(9): 146-149.
- [14] Weng MK, Natarajan K, Scholz D, et al. Lineage-specific regulation of epigenetic modifier genes in human liver and brain[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102035. DOI: 10.1371/journal.pone.0102035.
- [15] 苏乌云, 齐慧, 呼群. EZH2在非小细胞肺癌发生发展中的作用[J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(12): 2869-2872. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2013.12.77. Su WY, Qi H, Hu Q. The role of EZH2 in non-small cell lung cancer development[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2013, 21(12): 2869-2872.
- [16] Neff T, Sinha AU, Kluk MJ, et al. Polycomb repressive complex 2 is required for MLL-AF9 leukemia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(13): 5028-5033. DOI: 10.1073/pnas.1202258109.
- [17] Henriquez B, Bustos FJ, Aguilar R, et al. Ezh1 and Ezh2 differentially regulate PSD-95 gene transcription in developing hippocampal neurons[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2013, 57: 130-143. DOI: 10.1016/j.mcn.2013.07.012.
- [18] von Schimmelmann M, Feinberg PA, Sullivan JM, et al. Polycomb repressive complex 2 (PRC2) silences genes responsible for neurodegeneration[J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(10): 1321-1330. DOI: 10.1038/nn.4360.
- [19] Chatterjee M, Jaiswal M, Palit G. Comparative evaluation of forced swim test and tail suspension test as models of negative symptom of schizophrenia in rodents[J]. *ISRN Psychiatry*, 2012, 2012: 595141. DOI: 10.5402/2012/595141.

(收稿日期: 2018-12-27)

(本文编辑: 戚红丹)