

· 综述 ·

拷贝数变异及单核苷酸变异基因型自闭症动物模型研究进展

罗舒心 刘仲钰 钟振国 梁明坤 钟静

530200 南宁, 广西中医药大学研究生学院(罗舒心、刘仲钰), 科学实验中心(钟振国), 基础医学院(钟静); 530011 南宁, 广西中医药大学附属瑞康医院神经内科(梁明坤); 530023 南宁, 广西中医药大学第一附属医院博士后工作站(钟静)

通信作者: 钟静, Email: zhongjing1212@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2021.01.011

【摘要】 自闭症的发病率逐年升高, 因其致病原因的复杂性, 使得自闭症的研究成为难点。研究发现遗传因素约占自闭症发病率的 50%, 然而能有效反映病因的动物模型却少之又少, 现综述基于拷贝数变异(CNV)和单核苷酸变异(SNVs)建立的基因型自闭症动物模型, 作为以后了解自闭症机制的新高级模型工具。

【关键词】 自闭症; 基因; 疾病模型, 动物; 综述

基金项目: 广西自然科学基金青年科学基金项目(2018GXNSFBA138008)

Research progress of autism animal models with CNVs and SNVs genotypes Luo Shuxing, Liu Zhongyu, Zhong Zhenguo, Liang Mingkun, Zhong Jing

Graduate School of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China (Luo SX, Liu ZY); Scientific Experimental Center of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China (Zhong ZG); School of Basic Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China (Zhong J); Neurology Department, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, China (Liang MK); Postdoctoral Workstation, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China (Zhong J)

Corresponding author: Zhong Jing, Email: zhongjing1212@163.com

【Abstract】 The incidence rate of autism has been increasing year by year. Because of the complexity of its pathogenic causes, the study of autism has become difficult. Studies show that genetic factors account for 50% of the incidence rate of autism. However, there were few animal models that could effectively reflect the etiology. This article reviews the animal models of genotype autism based on copy number variation (CNV) and single nucleotide variation (SNVs), as a new advanced model tool to understand the mechanism of autism in the future.

【Key words】 Autism; Gene; Disease models, animal; Review

Fund program: Youth Science Fund Project of Guangxi Natural Science Foundation(2018GXNSFBA138008)

自闭症又称孤独症谱系障碍, 在其临床表现和个体的遗传背景上具有高度异质性。基于双胞胎、家庭和人群的研究表明, 自闭症遗传率约为 50%^[1-2], 遗传突变和新生突变对自闭症有显著的影响^[3-4]。如今, 许多遗传学研究发现了许多与自闭症相关的易感基因和遗传位点, 在有明确遗传原因的自闭症病例, 通常涉及染色体重排、拷贝数变异(CNV)或点突变, 包括 5 900 多万个单核苷酸变异(SNVs)和 9 212 个 CNVs^[5], SNV 和 CNV 分别占有自闭症病

例的 5% ~ 7% 和 10% ~ 20%^[6]。

随着自闭症遗传学与基因组学的发展, 与自闭症相关的基因型动物模型也成为研究热点, 但国内基于基因型自闭症动物模型上的研究涉及的基因极少, 大部分依然集中于传统的环境毒素诱导的自闭症动物模型, 基因型动物模型研究较国际上匮乏, 存在很大空白, 且缺乏全面系统的研究, 这给国内的自闭症研究工作提出了严峻的挑战。基因改造模型涉域广泛, 包括研究充分的单基因自闭症基因和

拷贝数变体, 现将重点介绍基于 CNVs 和 SNVs 建立的基因型自闭症动物模型(表 1), 为自闭症的研究提供新的模型选择方向。

表 1 基因型自闭症动物模型常见的 CNVs 及 SNVs 类型

模型类别	遗传缺陷类别	主要类型
CNVs	拷贝数变异	15q11 ~ 13 染色体异常 16p11.2 染色体异常 DP(11)17 变异
SNVs	单核苷酸多态性	同源物 CNTNap2 基因敲除 ephrin-a2/-a3 双敲除 Engrailed-2(EN2) 敲除 eif4e bp2 突变 fmr1 突变 转录因子 mef2c 突变 组蛋白乙酰转移酶 Creb 结合蛋白突变 TERT 过度表达 TPH2 突变 PTEN 突变 R451C 突变 Shank3 突变

注: CNVs 拷贝数变异; SNVs 单核苷酸变异

一、CNVs 模型

1. 15q11 ~ 13 染色体异常模型: 染色体 15q13.3 微缺失是导致癫痫、智力障碍、精神分裂症和自闭症的致病性拷贝数变异^[7-9]。研究发现 15q13.3 微缺失小鼠表现社会互动缺陷、行为不灵活、异常的超声波发声和焦虑状态^[10]。在 C57BL/6 背景上杂合子缺失的小鼠(D+/小鼠)还表现出包括侧脑室增大/加重的大脑(巨脑)^[11]。在 15q13.3 敲除小鼠中, 除了前期表现出的与自闭症三个核心行为特征相关的表型: 社会交往障碍、限制重复行为和沟通缺陷外^[12-13], 最新的研究发现 15q-dup 小鼠的兴奋性突触相对增多, 而形态未成熟, 但星形细胞突触较多, 此种突触表型与自闭症小鼠模型出生后早期突触水平病理学观点一致^[14]。对半合子和纯合子 15q13.3 小鼠模型的研究将有助于严重精神障碍的生物学机制研究并推动神经精神疾病的遗传发育学的发展, 是研究自闭症的有利工具。

2. 16p11.2 染色体异常模型: 人类 16p11.2 的重复拷贝数变异与多种发育/神经认知综合征有关, 在自闭症、发育迟缓和肥胖患者中尤其明显^[15-18]。使用染色体工程方法产生含有 16p11.2 对应染色体区域缺失的小鼠, 以及具有 16p11.2 对应染色体区域相互重复的小鼠, 发现这些 16p11.2 CNV 模型在基因表达、生存能力、大脑结构和行为方面具有剂量依赖性变化, 半数 16p11.2 缺失小鼠在出生后死亡,

而存活到成年的小鼠是健康的及可生育的, 伴随着下丘脑的改变, 表现出一种特殊的“行为陷阱”表型^[19]。在幼年突变小鼠(16p11+/-)中显示出解剖和细胞的异常及突触缺陷^[20], 前额叶连接性降低^[21], 而行为学实验则显示社会认知障碍、多动、盘旋和运动控制缺陷, 表现出完全缺乏习惯性, 与一些自闭症患者身上观察到的情况一致。

3. DP(11)17 变异模型: 染色体工程 DP(11)17/+ 小鼠在基因组间期具有重复的 CNV 同构, 当复制到人类基因组中时, 会导致 PTL(称 Potocki-Lupski 综合征, 与 17p11.2 的微复制有关, 临床特征包括多种先天性和神经行为异常)和相关的自闭症特征。前期研究发现 DP(11)17/+ 小鼠在升高的正迷宫中表现出更多的焦虑相关行为, 对社会目标和无生命目标的偏好表现出轻微的损害及对社会新颖性偏好的缺乏^[22]。此动物模型显示了所有典型用于诊断人类自闭症的核心行为, 包括异常的社会互动、沟通障碍以及存在限制性或重复性行为, 在发育调节的交流和显示强迫性重复行为方面也发生了变化。此外, 这些小鼠还表现出几种与自闭症相关的特征, 包括焦虑增加、学习和记忆缺陷、运动协调缺陷、攻击性和睡眠障碍^[23]。这个模型还复制了为数不多的自闭症的成熟生理标记之一, 即血清素水平的变化。

二、SNVs 模型

1. 同源物 CNTNap2 基因敲除模型: 有研究利用啮齿动物同源物 CNTNap2-KO 的基因敲除(KO)可建立转基因小鼠模型^[24], 发现这些小鼠表现出与人类自闭症症状极为相似的不良社会交往、行为坚持和发声减少^[25-26], CNTNap2-KO 小鼠的髓鞘形成也出现异常, 与自闭症的低连通性模型一致^[26]。对该小鼠模型行为表型的进一步评估, 发现 CNTNap2-KO 小鼠在任务获得期间的工作记忆和参考记忆有明显的缺陷; 在保留期内(即在错误的渐近线后), CNTNap2-KO 小鼠的表现与野生型小鼠相当。这些小鼠还表现出异常的皮质神经同步(即增强的异步性)、较少的神经元间(主要是抑制性的)和非典型神经元迁移, 所有这些细胞异常都可以与目前有关自闭症机制的生物学理论联系起来^[27]。

2. ephrin-a2/-a3 双敲除模型: epha 受体和 ephrin-a 配体在脑区的神经发育和突触可塑性中发挥重要作用, 这些区域的表达一直持续到成年, epha3 和 epha7 基因突变分别与自闭症和发育神经延迟有关^[28-30], 对 epha3 和 epha7 受体具有高度结合亲和力的 ephrin-a2 或 ephrin-a3 的缺失与小鼠学习记忆行为的

轻微缺陷以及皮质和海马树突脊柱形态的异常有关。ephrin-a2/-a3 双敲除(D-KO)小鼠^[31]的主要表现是重复性和自残的梳理行为,与自闭症一致的是,在社会行为分析中,D-KO小鼠对社会相互作用的偏好降低,在旷场中运动活性降低,对声惊吓的预脉冲抑制增强,以及在新环境中向自我定向活动的转变,如大理石掩埋。而在恐惧调节和Morris水迷宫上的表现细微差异与其他啮齿动物模型中观察到的自闭症特征相似。由此得出结论,ephrin-a2/-a3 D-KO小鼠的感官异常和限制性、重复性行为症状突出,作为一种新的自闭症模型具有实用性。

3. Engrailed-2(EN2)敲除模型:EN2是一种参与中脑/后脑区域区域化和模式化的同源域转录因子。全基因组关联研究发现转录因子EN2是自闭症的候选基因。遗传研究^[32]和尸检脑组织表达分析^[33-34]表明,人类EN2基因的非调控表达与自闭症有关,缺乏EN2同源盒结构域的EN2HD/HD小鼠(EN2-/-小鼠)的小脑和海马中,与自闭症相关的几个基因被显著地解除了调控^[35]。EN2-/-小鼠表现出社交互动减少、空间学习缺陷^[36-38]和癫痫易感性增加^[39],伴随着与自闭症相关的神经病理学变化及小脑和前脑抑制神经元丢失^[40-41]。而EN2-/-小鼠在Morris水迷宫中表现出行为障碍,同时伴有活性依赖基因Arc的低表达;定量RT-PCR、免疫印迹和免疫组化显示EN2-/-幼鼠齿状回神经纤维蛋白表达显著下调^[42],这表明EN2突变模型是研究与自闭症相关的基因表达变化及神经发育基础的可靠模型。

4. eif4e bp2突变模型:在大脑发育过程中恶化的mRNA翻译与自闭症谱系障碍有关。缺失真核起始因子4e(eif4e)-结合蛋白2基因(eif4e bp2),编码mRNA翻译起始抑制因子4e-bp2,导致兴奋性到抑制性神经传递和自闭症样行为的失衡,过量的eif4e活动可促进小鼠自闭症样行为的发展^[43]。eif4e bp2(编码4e-bp2)的基因缺失或eif4e的过度表达导致对神经亮素编码的mRNAs的翻译增加,导致E/I比率失衡、社会互动受损、重复行为和发声缺陷^[44]。近期有研究使用mGluR1或mGluR5拮抗剂研究eif4e bp2突变小鼠自闭症样表现的潜在逆转^[45],发现体内单剂量的mGluR1(0.3 mg/kg)或mGluR5(3 mg/kg)拮抗剂逆转了eif4e bp2突变小鼠的社会互动和重复行为缺陷,表明eif4e bp2突变小鼠可作为一个相关模型来测试潜在的自闭症症状治疗。

5. fmr1突变模型:感觉过敏是自闭症的常见症状,包括脆性X综合征(FXS),常导致触觉防御。在

自闭症的小鼠模型中,发现皮质感觉回路的适应能力受损是自闭症患者触觉防御能力的潜在原因^[46],fmr1-KO幼鼠对胡须刺激存在过度运动反应,在年轻和成年的fmr1-KO小鼠中,神经元对重复性胡须刺激的适应能力明显不足。与人类正位基因fmr1相似的小鼠fmr1基因敲除后,社会互动测试表明,与同龄鼠相比,fmr1-KO小鼠存在社会行为异常^[47-48];三室测验中显示出对社会新颖性偏好的缺陷及减少的社会调查,并表现出类似于自闭症患者的攻击性行为^[49];Y迷宫中表现出重复及限制性行为^[50]。fmr1-KO小鼠模型已经被研究了与自闭症相关的几种行为和生理特征,并显示出最预期的症状。这可能为自闭症提供一个考虑到人类疾病变异性的可塑性和可靠性模型。

6. 转录因子mef2c突变模型:心肌细胞转录因子mef2c调节与自闭症相关的多个基因^[51-52],人类mef2c单倍不足导致自闭症、智力障碍和癫痫^[53-54],mef2c突变小鼠表现出与人类自闭症患者相似的行为缺陷。在听觉感觉处理中,发现皮质来源成分的潜伏期增加及伽马带异常,后者最近被确认为特发性自闭症的內表型。在对听觉刺激的反应中,这些突变小鼠反映出特定的潜伏期差异,并特异性地表现出与自闭症相关的 γ 和 β 带异常,而在自闭症中MECP2的表达下降占主导地位,这进一步提示了自闭症的常见皮质病理生理学^[55]。研究表明MECP2功能杂合子缺失的小鼠模型充分显示出自闭症样行为,且伴随皮质基因表达的改变以及皮层兴奋性突触传递的缺陷,降低了生存能力^[56],为自闭症的机制和治疗研究提供了新的模型工具。

7. 组蛋白乙酰转移酶Creb结合蛋白突变模型:在大约25%的自闭症病例中发现了基因突变,包括表观遗传调控因子的突变,这表明调节不当的染色体或DNA功能是自闭症的关键组成部分^[57-58]。组蛋白乙酰转移酶Creb结合蛋白(cbp, crebbp)的突变导致Rubinstein-Taybi综合征(RTS),一种包括自闭症样症状的发育障碍。研究发现,在cbp-ch1(taz1)结构域(cbp Δ ch1/ Δ ch1)缺失突变的小鼠出现了与自闭症相关的重复行为、多动、社会互动缺陷、运动功能障碍、识别记忆受损和异常的突触可塑性^[59]。这表明,cbp-ch1结构域功能的丧失导致RTS或自闭症,并且该结构域在正常的运动功能、认知和社会行为中起着重要作用。而进一步的检测CBP Δ CH1/ Δ CH1小鼠的行为和海马突触可塑性,发现与自闭症相关小鼠模型的许多表型相似。

8. 端粒酶逆转录酶(TERT)过度表达模型: TERT过度表达的动物表现出社交互动减少、对新社交互动的偏好降低和筑巢行为不良的症状^[60], 这些症状与在自闭症中观察到的症状一致。TERT的过度表达也改变了内侧前额叶皮质的兴奋/抑制(E/I)比率, 而大脑中的E/I失衡成为自闭症的主要内表型^[61-62]。在研究中, 采用电生理学方法与行为分析相结合的方法来检测特转基因小鼠和FVB对照组的海马功能, 发现TERT过度表达导致海马兴奋增强, 而抑制作用没有改变, 并显著损害长期的突触可塑性。磷酸化creb和磷酸化camkii α 的表达水平显著降低, 而在特高表达小鼠的海马中camkii α 的表达水平略有增加^[63]。TERT在正常突触功能和行为中的重要性, 提供了一个新的与TERT过度表达相关的自闭症动物模型。

9. 色氨酸羟化酶2(TPH2)突变模型: 5-羟色胺(5-HT)是哺乳动物中枢神经系统中一种重要的调节性神经递质, 作为发育信号起着重要作用, 人类的5-HT信号改变与精神病理学有关, 特别是神经发育障碍, 如自闭症^[64]。TPH2缺失突变小鼠表现出与所有自闭症核心症状相关的缺陷, 包括社交性、气味标记和重复性行为^[65]。最近研究还发现在隔离诱导的超声发声(USV)中, TPH2突变小鼠杂合子和野生型幼崽相比, 其幼崽在生长迟缓发作期间的分离诱导USV释放明显不足, 包括呼叫数减少、呼叫聚类和时间组织缺陷。TPH2突变小鼠幼崽表现出的超声交流缺陷可能导致母婴相互作用不足, 这可能是导致其生长迟缓表型的原因, 并且是与自闭症相关的一个显著特征^[66]。

10. PTEN突变模型: 磷酸酶和紧张素同系物(PTEN)的突变, 是编码PI3K - AKT - MTOR通路负性调节器的几种自闭症危险因素之一, 发现存在于自闭症患者中, 与大头畸形共病^[67-68]。有研究表明, 一个PTEN种系单倍不足(PTEN $+/ -$)的小鼠模型有选择性缺陷, 主要在社会行为方面, 以及大脑的广泛过度生长^[69-70]。而PTEN $+/ -$ 雄性小鼠的攻击性较小, 且进行较少的社会互动^[71]以及重复性行为的增加, 这些行为异常与其他自闭症小鼠模型的结果一致。PTEN突变小鼠不仅降低了总PTEN水平, 还显示了社会动机的性别特异性增加、平衡差和正常的认知记忆, 这一特征与一些高功能自闭症患者一致。而明显的星形胶质细胞增生和小胶质细胞活化, 则表明存在神经炎症表型^[72-73]。因此, 概括了自闭症的许多行为、形态和分子特征的PTEN突变

模型可用来研究自闭症发病的共同机制。

11. R451C突变模型: 研究证实一小部分自闭症患者携带编码神经信号蛋白和神经肽的基因突变^[74-76], 神经信号蛋白是突触后细胞黏附分子。先前有研究将其中一个突变引入小鼠^[77], 即神经叶黄素-3中的arg451 \rightarrow cys451(R451C)替代物, 结果显示R451C突变小鼠的社交能力受损, 但空间学习能力增强, 并伴随着抑制性突触传递的增加, 表明R451C的替代代表了功能突变的增加。这些数据表明, 增加抑制性突触传递可能引起自闭症。而最近在NL3R451C小鼠中发现除了社会交互作用缺陷^[61-78]外, 还存在重复和限制性目标探索和攻击的新行为表型^[79-82]。这充分表明R451C基因敲除小鼠是研究自闭症相关行为的一个有用模型, 是探讨自闭症发病机制和开发新疗法的有力工具。

12. Shank3突变模型: Shank3是突触后密度(postsynaptic density, PSD)的核心蛋白, 在吸收PSD和突触的许多关键功能成分中起着关键作用。先前有研究使用有靶向Shank3断裂的小鼠, 删除编码锚蛋白重复域的外显子, 并破坏了全长Shank3的表达, 发现Shank3杂合子小鼠突触功能和可塑性的特异性缺陷, 以及相互作用的减少^[83]。Shank3缺陷会损害mGluR5-homer支架, 导致皮质纹状体电路异常, 导致学习缺陷和自闭症样行为^[84]。行为学上, Shank3基因缺失的老鼠表现出自我伤害的重复梳理和社会互动的缺陷^[85-86], 还表现出运动失调、对热过敏、新颖性回避, 对新颖性的运动行为所做出的反应是出现了改变的最小社会异常^[87-88], 并有广泛的突触功能障碍^[89]。Shank3突变小鼠具有良好的表面效率及结构效率, 使得其成为一种可靠的自闭症动物模型。

三、小结

利用基因修饰的动物模型进行神经病理学研究将有助于提高对疾病机制的理解, 以进一步阐明假定的病因和致病途径, 并促进临床相关诊断和治疗工具的出现及发展针对性治疗, 有助于寻找有效的治疗药物。目前基因型自闭症动物模型种类繁多, 文中列出来的是较具代表性的基于CNVs和SNVs建立的基因型自闭症动物模型。不同基因型的自闭症动物模型均存在各自的优缺点, 这些模型除表现了自闭症的核心症状外, 有些模型还显示出不同的自闭症伴随症状, 见表2。如15q11~13染色体异常及DP(11)17变异模型显现出焦虑状态, 16p11.2染色体异常及Creb结合蛋白突变模型表现出多动和运

表 2 与自闭症相关的行为表现及对应的自闭症相关基因型动物模型

与自闭症相关行为表现	自闭症相关基因型动物模型
社交行为障碍	15q11 ~ 13 染色体异常、DP(11)17 变异、同源物 CNTNap2 基因敲除、ephrin-a2/-a3 双敲除、EN2 敲除、eif4e bp2 突变、fmr1 突变、转录因子 mef2c 突变、组蛋白乙酰转移酶 Creb 结合蛋白突变、TERT 过度表达、TPH2 突变、PTEN 突变、R451C 突变、Shank3 突变
重复限制性行为	15q11 ~ 13 染色体异常、16p11.2 染色体异常、DP(11)17 变异、同源物 CNTNap2 基因敲除、ephrin-a2/-a3 双敲除、EN2 敲除、eif4e bp2 突变、fmr1 突变、转录因子 mef2c 突变、组蛋白乙酰转移酶 Creb 结合蛋白突变、TERT 过度表达、TPH2 突变、PTEN 突变、R451C 突变、Shank3 突变
学习及记忆受损	DP(11)17 变异、同源物 CNTNap2 基因敲除、EN2 敲除、转录因子 mef2c 突变、组蛋白乙酰转移酶 Creb 结合蛋白突变、Shank3 突变
异常发声	15q11 ~ 13 染色体异常、同源物 CNTNap2 基因敲除、eif4e bp2 突变、TPH2 突变
焦虑	15q11 ~ 13 染色体异常、DP(11)17 变异
多动	16p11.2 染色体异常、组蛋白乙酰转移酶 Creb 结合蛋白突变
攻击行为	DP(11)17 变异、fmr1 突变、R451C 突变
运动失调	16p11.2 染色体异常、EN2 敲除、组蛋白乙酰转移酶 Creb 结合蛋白突变、Shank3 突变
睡眠障碍	DP(11)17 变异

动失调,而攻击行为则在 DP(11)17 变异、fmr1 突变及 R451C 突变模型中被发现,DP(11)17 变异模型还表现出特有的睡眠障碍。鉴于自闭症的异质性,没有一个单一的模型可以重现整个症状谱,但可根据研究方向选择最优模型。

新技术的应用,将揭示更多与精神疾病相关的额外基因组重排,因此要分析基因重排的表型和潜在的分子机制,动物模型将是一个强有力的工具。消除异质性,能更好地理解自闭症相关基因或基因位点突变对神经和突触特征的影响。因此,如何将异质性遗传形式的自闭症聚合成这一类疾病特有的迂回和行为改变仍是一巨大挑战。目前基因型自闭症动物模型研究已经发现了基因改变后自闭症行为表现基础的突触病理改变,神经病理学及解剖和细胞的异常,这将加速未来在遗传发育学及细胞分子水平上对自闭症的研究,进行早期干预,挖掘潜在治疗。

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 文献收集与整理为罗舒心、刘仲钰,文章构思与撰写为罗舒心,文章修订与校正为梁明坤、钟静,文章质量把控为钟振国

参 考 文 献

[1] Gaugler T, Klei L, Sanders S, et al. Most genetic risk for autism resides with common variation[J]. Nat Genet, 2014, 46(8): 881-885. DOI: 10.1038/ng.3039.

[2] Klei L, Sanders SJ, Murtha MT, et al. Common genetic variants, acting additively, are a major source of risk for autism[J]. Mol Autism, 2012, 3(1): 9. DOI: 10.1186/2040-2392-3-9.

[3] Dong S, Walker MF, Carriero NJ, et al. De novo insertions and deletions of predominantly paternal origin are associated with autism spectrum disorder[J]. Cell Rep, 2014, 9(1): 16-23. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.08.068.

[4] Sanders SJ, He X, Willsey AJ, et al. Insights into Autism Spectrum Disorder Genomic Architecture and Biology from 71

Risk Loci[J]. Neuron, 2015, 87(6): 1215-1233. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.09.016.

[5] Turner TN, Coe BP, Dickel DE, et al. Genomic Patterns of De Novo Mutation in Simplex Autism[J]. Cell, 2017, 171(3): 710-722.e12. DOI: 10.1016/j.cell.2017.08.047.

[6] Varghese M, Keshav N, Jacot-Descombes S, et al. Autism spectrum disorder: neuropathology and animal models[J]. Acta Neuropathol, 2017, 134(4): 537-566. DOI: 10.1007/s00401-017-1736-4.

[7] Glessner JT, Wang K, Cai G, et al. Autism genome-wide copy number variation reveals ubiquitin and neuronal genes[J]. Nature, 2009, 459(7246): 569-573. DOI: 10.1038/nature07953.

[8] Beal JC. Case report: Neuronal migration disorder associated with chromosome 15q13.3 duplication in a boy with autism and seizures[J]. Child Neurol, 2014, 29(12): NP186-188. DOI: 10.1177/0883073813510356.

[9] Lowther C, Costain G, Stavropoulos DJ, et al. Delineating the 15q13.3 microdeletion phenotype: a case series and comprehensive review of the literature[J]. Genet Med, 2015, 17(2): 149-157. DOI: 10.1038/gim.2014.83.

[10] Nakatani J, Tamada K, Hatanaka F, et al. Abnormal behavior in a chromosome-engineered mouse model for human 15q11-13 duplication seen in autism[J]. Cell, 2009, 137(7): 1235-1246. DOI: 10.1016/j.cell.2009.04.024.

[11] Forsingdal A, Fejgin K, Nielsen V, et al. 15q13.3 homozygous knockout mouse model display epilepsy-, autism- and schizophrenia-related phenotypes[J]. Transl Psychiatry, 2016, 6(7): e860. DOI: 10.1038/tp.2016.125.

[12] Kogan JH, Gross AK, Featherstone RE, et al. Mouse Model of Chromosome 15q13.3 Microdeletion Syndrome Demonstrates Features Related to Autism Spectrum Disorder[J]. Neurosci, 2015, 35(49): 16282-16294. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3967-14.2015.

[13] Ziats MN, Goin-Kochel RP, Berry LN, et al. The complex behavioral phenotype of 15q13.3 microdeletion syndrome[J]. Genet Med, 2016, 18(11): 1111-1118. DOI: 10.1038/gim.2016.9.

[14] Sato Y, Okabe S. Nano-scale analysis of synapse morphology in an autism mouse model with 15q11-13 copy number variation using focused ion beam milling and scanning electron microscopy[J].

- Microscopy (Oxf), 2019, 68(2): 122-132. DOI: 10.1093/jmicro/dfy128.
- [15] Kumar RA, KaraMohamed S, Sudi J, et al. Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(4): 628-638. DOI: 10.1093/hmg/ddm376.
- [16] Weiss LA, Shen Y, Korn JM, et al. Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(7): 667-675. DOI: 10.1056/NEJMoa075974.
- [17] Crepel A, Steyaert J, De la Marche W, et al. Narrowing the critical deletion region for autism spectrum disorders on 16p11.2 [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2011, 156(2): 243-245. DOI: 10.1002/ajmg.b.31163.
- [18] Sanders SJ, Ercan-Sencicek AG, Hus V, et al. Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism [J]. *Neuron*, 2011, 70(5): 863-885. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.05.002.
- [19] Horev G, Ellegood J, Lerch JP, et al. Dosage-dependent phenotypes in models of 16p11.2 lesions found in autism [J]. *Proc Natl Acad*, 2011, 108(41): 17076-17081. DOI: 10.1073/pnas.1114042108.
- [20] Portmann T, Yang M, Mao R, et al. Behavioral abnormalities and circuit defects in the basal ganglia of a mouse model of 16p11.2 deletion syndrome [J]. *Cell Rep*, 2014, 7(4): 1077-1092. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.03.036.
- [21] Bertero A, Liska A, Pagani M, et al. Autism-associated 16p11.2 microdeletion impairs prefrontal functional connectivity in mouse and human [J]. *Brain*, 2018, 141(7): 2055-2065. DOI: 10.1093/brain/awy111.
- [22] Molina J, Carmona-Mora P, Chrast J, et al. Abnormal social behaviors and altered gene expression rates in a mouse model for Potocki-Lupski syndrome [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(16): 2486-2495. DOI: 10.1093/hmg/ddn148.
- [23] Lacaria M, Spencer C, Gu W, et al. Enriched rearing improves behavioral responses of an animal model for CNV-based autistic-like traits [J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(14): 3083-3096. DOI: 10.1093/hmg/dds124.
- [24] Poliak S, Salomon D, Elhanany H, et al. Juxtaparanodal clustering of Shaker-like K⁺ channels in myelinated axons depends on Caspr2 and TAG-1 [J]. *Cell Biol*, 2003, 162(6): 1149-1160. DOI: 10.1083/jcb.200305018.
- [25] Peñagarikano O, Abrahams BS, Herman EI, et al. Absence of CNTNAP2 leads to epilepsy, neuronal migration abnormalities, and core autism-related deficits [J]. *Cell*, 2011, 147(1): 235-246. DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.040.
- [26] Peñagarikano O, Geschwind DH. What does CNTNAP2 reveal about autism spectrum disorder? [J]. *Trends Mol Med*, 2012, 18(3): 156-163. DOI: 10.1016/j.molmed.2012.01.003.
- [27] Rendall AR, Truong DT, Fitch RH. Learning delays in a mouse model of Autism Spectrum Disorder [J]. *Behav Brain Res*, 2016, 303: 201-207. DOI: 10.1016/j.bbr.2016.02.006.
- [28] Carmona MA, Murai KK, Wang L, et al. Glial ephrin-A3 regulates hippocampal dendritic spine morphology and glutamate transport [J]. *Proc Natl Acad*, 2009, 106(30): 12524-12529. DOI: 10.1073/pnas.0903328106.
- [29] Arnall S, Cheam LY, Smart C, et al. Abnormal strategies during visual discrimination reversal learning in ephrin-A2(-/-) mice [J]. *Behav Brain Res*, 2010, 209(1): 109-113. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.01.023.
- [30] Ringman JM, Jankovic J. Occurrence of tics in Asperger's syndrome and autistic disorder [J]. *Child Neurol*, 2000, 15(6): 394-400. DOI: 10.1177/088307380001500608.
- [31] Wurzman R, Forcelli PA, Griffey CJ, et al. Repetitive grooming and sensorimotor abnormalities in an ephrin-A knockout model for Autism Spectrum Disorders [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 278: 115-128. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.09.012.
- [32] Hnoonal A, Sripo T, Limprasert P. Whole-exome sequencing identifies a novel heterozygous missense variant of the EN2 gene in two unrelated patients with autism spectrum disorder [J]. *Psychiatr Genet*, 2016, 26(6): 297-301. DOI: 10.1097/YPG.000000000000153.
- [33] James SJ, Shpileva S, Melnyk S, et al. Elevated 5-hydroxymethylcytosine in the Engrailed-2 (EN-2) promoter is associated with increased gene expression and decreased MeCP2 binding in autism cerebellum [J]. *Transl Psychiatry*, 2014, 4(10): e460. DOI: 10.1038/tp.2014.87.
- [34] Choi J, Ababon MR, Soliman M, et al. Autism associated gene, engrailed2, and flanking gene levels are altered in post-mortem cerebellum [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e87208. DOI: 10.1371/journal.pone.0087208.
- [35] Sgadò P, Provenzano G, Dassi E, et al. Transcriptome profiling in Engrailed-2 mutant mice reveals common molecular pathways associated with autism spectrum disorders [J]. *Mol Autism*, 2013, 4(1): 51. DOI: 10.1186/2040-2392-4-51.
- [36] Cheh MA, Millonig JH, Roselli LM, et al. En2 knockout mice display neurobehavioral and neurochemical alterations relevant to autism spectrum disorder [J]. *Brain Res*, 2006, 1116(1): 166-176. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.086.
- [37] Brielmaier J, Matteson PG, Silverman JL, et al. Autism-relevant social abnormalities and cognitive deficits in Engrailed-2 knockout mice [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40914. DOI: 10.1371/journal.pone.0040914.
- [38] Brielmaier J, Senerth JM, Silverman JL, et al. Chronic desipramine treatment rescues depression-related, social and cognitive deficits in Engrailed-2 knockout mice [J]. *Genes Brain Behav*, 2014, 13(3): 286-298. DOI: 10.1111/gbb.12115.
- [39] Tripathi PP, Sgadò P, Scali M, et al. Increased susceptibility to kainic acid-induced seizures in Engrailed-2 knockout mice [J]. *Neuroscience*, 2009, 159(2): 842-849. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2009.01.007.
- [40] Kuemerle B, Zanjani H, Joyner A, et al. Pattern deformities and cell loss in Engrailed-2 mutant mice suggest two separate patterning events during cerebellar development [J]. *Neurosci*, 1997, 17(20): 7881-7889. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.17-20-07881.1997.
- [41] Sgadò P, Genovesi S, Kalinovsky A, et al. Loss of GABAergic neurons in the hippocampus and cerebral cortex of Engrailed-2 null mutant mice: implications for autism spectrum disorders [J]. *Exp Neurol*, 2013, 247: 496-505. DOI: 10.1016/j.expneurol.2013.01.021.
- [42] Provenzano G, Pangrazzi L, Poli A, et al. Hippocampal dysregulation of neurofibromin-dependent pathways is associated with impaired spatial learning in engrailed 2 knock-out mice [J]. *Neurosci*, 2014, 34(40): 13281-13288. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2894-13.2014.
- [43] Santini E, Huynh TN, MacAskill AF, et al. Exaggerated

- translation causes synaptic and behavioural aberrations associated with autism[J]. *Nature*, 2013, 493(7432): 411-415. DOI: 10.1038/nature11782.
- [44] Gkogkas CG, Khoutorsky A, Ran I, et al. Autism-related deficits via dysregulated eIF4E-dependent translational control[J]. *Nature*, 2013, 493(7432): 371-377. DOI: 10.1038/nature11628.
- [45] Aguilar-Valles A, Matta-Camacho E, Khoutorsky A, et al. Inhibition of Group I Metabotropic Glutamate Receptors Reverses Autistic-Like Phenotypes Caused by Deficiency of the Translation Repressor eIF4E Binding Protein 2 [J]. *Neurosci*, 2015, 35(31): 11125-11132. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4615-14.2015.
- [46] He CX, Cantu DA, Mantri SS, et al. Tactile Defensiveness and Impaired Adaptation of Neuronal Activity in the Fmr1 Knock-Out Mouse Model of Autism[J]. *Neurosci*, 2017, 37(27): 6475-6487. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0651-17.2017.
- [47] Bernardet M, Crusio WE. Fmr1 KO mice as a possible model of autistic features[J]. *Scientific World Journal*, 2006, 6: 1164-1176. DOI: 10.1100/tsw.2006.220.
- [48] Gauducheau M, Lemaire-Mayo V, D'Amato FR, et al. Age-specific autistic-like behaviors in heterozygous Fmr1-KO female mice[J]. *Autism Res*, 2017, 10(6): 1067-1078. DOI: 10.1002/aur.1743.
- [49] Pietropaolo S, Guilleminot A, Martin B, et al. Genetic-background modulation of core and variable autistic-like symptoms in Fmr1 knock-out mice[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e17073. DOI: 10.1371/journal.pone.0017073.
- [50] Parikshak NN, Luo R, Zhang A, et al. Integrative functional genomic analyses implicate specific molecular pathways and circuits in autism[J]. *Cell*, 2013, 155(5): 1008-1021. DOI: 10.1016/j.cell.2013.10.031.
- [51] Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability[J]. *Nature*, 2014, 511(7509): 344-347. DOI: 10.1038/nature13394.
- [52] Le Meur N, Holder-Espinasse M, Jaillard S, et al. MEF2C haploinsufficiency caused by either microdeletion of the 5q14.3 region or mutation is responsible for severe mental retardation with stereotypic movements, epilepsy and/or cerebral malformations[J]. *Med Genet*, 2010, 47(1): 22-29. DOI: 10.1136/jmg.2009.069732.
- [53] Mikhail FM, Lose EJ, Robin NH, et al. Clinically relevant single gene or intragenic deletions encompassing critical neurodevelopmental genes in patients with developmental delay, mental retardation, and/or autism spectrum disorders[J]. *Med Genet A*, 2011, 155A(10): 2386-2396. DOI: 10.1002/ajmg.a.34177.
- [54] Tu S, Akhtar MW, Escorihuela RM, et al. NitroSynapsin therapy for a mouse MEF2C haploinsufficiency model of human autism[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1488. DOI: 10.1038/s41467-017-01563-8.
- [55] Harrington AJ, Raissi A, Rajkovich K, et al. MEF2C regulates cortical inhibitory and excitatory synapses and behaviors relevant to neurodevelopmental disorders[J]. *Elife*, 2016, 5: e20059. DOI: 10.7554/eLife.20059.
- [56] Harrington AJ, Bridges CM, Berto S, et al. MEF2C Hypofunction in Neuronal and Neuroimmune Populations Produces MEF2C Haploinsufficiency Syndrome-like Behaviors in Mice[J]. *Biol Psychiatry*, 2020, 88(6): 488-499. DOI: 10.1016/j.biopsych.2020.03.011.
- [57] De Rubeis S, He X, Goldberg AP, et al. Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism[J]. *Nature*, 2014, 515(7526): 209-215. DOI: 10.1038/nature13772.
- [58] Xu LM, Li JR, Huang Y, et al. AutismKB: an evidence-based knowledgebase of autism genetics[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(Database issue): D1016-1022. DOI: 10.1093/nar/gkr1145.
- [59] Zheng F, Kasper LH, Bedford DC, et al. Mutation of the CH1 Domain in the Histone Acetyltransferase CREBBP Results in Autism-Relevant Behaviors in Mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146366. DOI: 10.1371/journal.pone.0146366.
- [60] Kim KC, Rhee J, Park JE, et al. Overexpression of Telomerase Reverse Transcriptase Induces Autism-like Excitatory Phenotypes in Mice[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(10): 7312-7328. DOI: 10.1007/s12035-015-9630-3.
- [61] Etherton M, Földy C, Sharma M, et al. Autism-linked neuroligin-3 R451C mutation differentially alters hippocampal and cortical synaptic function[J]. *Proc Natl Acad*, 2011, 108(33): 13764-13769. DOI: 10.1073/pnas.1111093108.
- [62] Gogolla N, Leblanc JJ, Quast KB, et al. Common circuit defect of excitatory-inhibitory balance in mouse models of autism[J]. *Neurodev Disord*, 2009, 1(2): 172-181. DOI: 10.1007/s11689-009-9023-x.
- [63] Rhee J, Park K, Kim KC, et al. Impaired Hippocampal Synaptic Plasticity and Enhanced Excitatory Transmission in a Novel Animal Model of Autism Spectrum Disorders with Telomerase Reverse Transcriptase Overexpression[J]. *Mol Cells*, 2018, 41(5): 486-494. DOI: 10.14348/molcells.2018.0145.
- [64] Zafeiriou DI, Ververi A, Vargiami E. The serotonergic system: its role in pathogenesis and early developmental treatment of autism[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2009, 7(2): 150-157. DOI: 10.2174/157015909788848848.
- [65] Kane MJ, Angoa-Peréz M, Briggs DI, et al. Mice genetically depleted of brain serotonin display social impairments, communication deficits and repetitive behaviors: possible relevance to autism[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48975. DOI: 10.1371/journal.pone.0048975.
- [66] Mosienko V, Beis D, Alenina N, et al. Reduced isolation-induced pup ultrasonic communication in mouse pups lacking brain serotonin[J]. *Mol Autism*, 2015, 6: 13. DOI: 10.1186/s13229-015-0003-6.
- [67] Butler MG, Dasouki MJ, Zhou XP, et al. Subset of individuals with autism spectrum disorders and extreme macrocephaly associated with germline PTEN tumour suppressor gene mutations [J]. *Med Genet*, 2005, 42(4): 318-321. DOI: 10.1136/jmg.2004.024646.
- [68] Tan MH, Mester J, Peterson C, et al. A clinical scoring system for selection of patients for PTEN mutation testing is proposed on the basis of a prospective study of 3042 probands[J]. *Hum Genet*, 2011, 88(1): 42-56. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.11.013.
- [69] Page DT, Kuti OJ, Prestia C, et al. Haploinsufficiency for Pten and Serotonin transporter cooperatively influences brain size and social behavior[J]. *Proc Natl Acad*, 2009, 106(6): 1989-1994. DOI: 10.1073/pnas.0804428106.
- [70] Clipperton-Allen AE, Page DT. Pten haploinsufficient mice show broad brain overgrowth but selective impairments in autism-relevant behavioral tests[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(13): 3490-3505. DOI: 10.1093/hmg/ddu057.

- [71] Clipperton-Allen AE, Page DT. Decreased aggression and increased repetitive behavior in Pten haploinsufficient mice [J]. *Genes Brain Behav*, 2015, 14(2): 145-157. DOI: 10.1111/gbb.12192.
- [72] Tilot AK, Gaugler MK, Yu Q, et al. Germline disruption of Pten localization causes enhanced sex-dependent social motivation and increased glial production [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(12): 3212-3227. DOI: 10.1093/hmg/ddu031.
- [73] Tilot AK, Bebek G, Niazi F, et al. Neural transcriptome of constitutional Pten dysfunction in mice and its relevance to human idiopathic autism spectrum disorder [J]. *Mol Psychiatry*, 2016, 21(1): 118-125. DOI: 10.1038/mp.2015.17.
- [74] Jamain S, Quach H, Betancur C, et al. Paris Autism Research International Sibpair Study. Mutations of the X-linked genes encoding neuroligins NLGN3 and NLGN4 are associated with autism [J]. *Nat Genet*, 2003, 34(1): 27-29. DOI: 10.1038/ng1136.
- [75] Ching MS, Shen Y, Tan WH, et al. Deletions of NRXN1 (neurexin-1) predispose to a wide spectrum of developmental disorders [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2010, 153B(4): 937-947. DOI: 10.1002/ajmg.b.31063.
- [76] Belmonte MK, Bourgeron T. Fragile X syndrome and autism at the intersection of genetic and neural networks [J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9(10): 1221-1225. DOI: 10.1038/nn1765.
- [77] Tabuchi K, Blundell J, Etherton MR, et al. A neuroligin-3 mutation implicated in autism increases inhibitory synaptic transmission in mice [J]. *Science*, 2007, 318(5847): 71-76. DOI: 10.1126/science.1146221.
- [78] Hörnberg H, Pérez-Garci E, Schreiner D, et al. Rescue of oxytocin response and social behaviour in a mouse model of autism [J]. *Nature*, 2020, 584(7820): 252-256. DOI: 10.1038/s41586-020-2563-7.
- [79] Rothwell PE, Fuccillo MV, Maxeiner S, et al. Autism-associated neuroligin-3 mutations commonly impair striatal circuits to boost repetitive behaviors [J]. *Cell*, 2014, 158(1): 198-212. DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.045.
- [80] Burrows EL, Laskaris L, Koyama L, et al. A neuroligin-3 mutation implicated in autism causes abnormal aggression and increases repetitive behavior in mice [J]. *Mol Autism*, 2015, 6: 62. DOI: 10.1186/s13229-015-0055-7.
- [81] Fitzpatrick SE, Srivorakiat L, Wink LK, et al. Aggression in autism spectrum disorder: presentation and treatment options [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2016, 12: 1525-1538. DOI: 10.2147/NDT.S84585.
- [82] Hosie S, Malone DT, Liu S, et al. Altered Amygdala Excitation and CB1 Receptor Modulation of Aggressive Behavior in the Neuroligin-3 R451C Mouse Model of Autism [J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 234. DOI: 10.3389/fncel.2018.00234.
- [83] 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.
- [84] Wang X, Bey AL, Katz BM, et al. Altered mGluR5-Homer scaffolds and corticostriatal connectivity in a Shank3 complete knockout model of autism [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11459. DOI: 10.1038/ncomms11459.
- [85] Peça J, Feliciano C, Ting JT, et al. Shank3 mutant mice display autistic-like behaviours and striatal dysfunction [J]. *Nature*, 2011, 472(7344): 437-442. DOI: 10.1038/nature09965.
- [86] Bangash MA, Park JM, Melnikova T, et al. Enhanced polyubiquitination of Shank3 and NM DA receptor in a mouse model of autism [J]. *Cell*, 2011, 145(5): 758-772. DOI: 10.1016/j.cell.2011.03.052.
- [87] Jaramillo TC, Speed HE, Xuan Z, et al. Altered Striatal Synaptic Function and Abnormal Behaviour in Shank3 Exon4-9 Deletion Mouse Model of Autism [J]. *Autism Res*, 2016, 9(3): 350-375. DOI: 10.1002/aur.1529.
- [88] Dhamne SC, Silverman JL, Super CE, et al. Replicable in vivo physiological and behavioral phenotypes of the Shank3B null mutant mouse model of autism [J]. *Mol Autism*, 2017, 8: 26. DOI: 10.1186/s13229-017-0142-z.
- [89] Jaramillo TC, Speed HE, Xuan Z, et al. Novel Shank3 mutant exhibits behaviors with face validity for autism and altered striatal and hippocampal function [J]. *Autism Res*, 2017, 10(1): 42-65. DOI: 10.1002/aur.1664.

(收稿日期: 2020-08-26)

(本文编辑: 戚红丹)