

DOI: 10.13376/j.cblls/2021105

文章编号: 1004-0374(2021)08-0962-09

SHANK3基因突变孤独症模型中枢兴奋抑制平衡变化的研究进展

孟昀晨¹, 张伟南¹, 熊信¹, 徐丹¹, 张小燕¹, 赵宇¹, 张嵘^{2*}, 甄志平^{1*}

(1 北京师范大学体育与运动学院, 北京 100875; 2 北京大学医学部神经科学研究所, 北京 100191)

摘要: 编码 SH3 (Src homology domain 3) 和多个锚蛋白重复结构域蛋白 3 (SHANK3) 基因广泛分布于大脑的各个脑区, 定位于兴奋性突触后致密部 (postsynaptic density, PSD)。SHANK3 基因不同位点突变的鼠类模型已被广泛构建, 以模拟孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 的行为表现, 探究异常行为背后的机制。各脑区的兴奋抑制平衡 (E-I balance) 是 ASD 的发生机制之一, 与 ASD 的行为表现密切相关。SHANK3 基因不同位点的突变可能会导致不同脑区 E-I 平衡的变化, 从而产生 ASD 样行为。该文主要综述 SHANK3 基因不同位点突变 ASD 鼠类模型不同脑区 E-I 平衡的变化、与行为之间的联系及相关机制的研究进展, 为 SHANK3 基因突变 ASD 鼠类模型的发病机制及干预的进一步深入研究提供借鉴。

关键词: SHANK3; 孤独症谱系障碍; 兴奋抑制平衡; 行为学

中图分类号: Q42; R74 **文献标志码:** A

Research progress on changes of central excitatory inhibitory balance in SHANK3 mutant model of ASD

MENG Yun-Chen¹, ZHANG Wei-Nan¹, XIONG Xin¹, XU Dan¹,
ZHANG Xiao-Yan¹, ZHAO Yu¹, ZHANG Rong^{2*}, ZHEN Zhi-Ping^{1*}

(1 Beijing Normal University College of P.E and Sports, Beijing 100875, China;

2 Peking University Health Science Center Institute of Neuroscience, Beijing 100191, China)

Abstract: The genes encoding SH3 and multiple anchor protein repeat domain protein 3 (SHANK3) are widely distributed in various brain regions and are located in excitatory postsynaptic density (PSD). Mouse models of mutations at different loci of the SHANK3 gene have been extensively constructed to mimic the behavioral manifestations of autism spectrum disorder (ASD) and to explore the mechanisms behind abnormal behaviors. E-I balance is one of the mechanisms of ASD, which is closely related to the behavioral manifestations of ASD. Mutations at different sites in SHANK3 may lead to changes in the E-I balance in different brain regions, causing ASD-like behavior. In this paper, we reviewed the research progress on the changes of E-I balance in different brain regions, the relationship between E-I balance and behavior, and the related mechanisms in the mouse model of ASD with SHANK3 gene mutation at different sites, so as to provide reference for further in-depth studies on the pathogenesis and intervention of the mouse model of ASD with SHANK3 gene mutation.

Key words: SHANK3; ASD; E-I balance; behavioristics

收稿日期: 2021-02-22; 修回日期: 2021-04-27

基金项目: 北京市社会科学基金重点项目(19YTA007); 国家体育总局决策咨询研究项目(No.2020-C-17); 教育部人文社会科学研究规划基金(20YJA890036); 中国教育与社会发展研究院(智库)专项课题(Wa2020013); 北京市教育科学“十三五”规划优先关注课题(AEEA2020017); 全国教育科学“十三五”规划重点课题(DHA190374); 北京师范大学学科交叉课题(BNUXKJC2011)

*通信作者: E-mail: zpxt@bnu.edu.cn (甄志平); E-mail: zhangrong@bjmu.edu.cn (张嵘)

在发育的生命过程中,许多动态过程调节着神经突触的数量、大小、形状和强度,这些变化是通过改变突触的分子组成或突触蛋白的化学修饰产生的。编码突触蛋白的基因(如SHANK3、Neuroigin、PSD95等)常会带有特定的突变,突变的后果通常会影 响突触蛋白的结构和功能,从而导致神经发育障碍和突触环路缺陷。SHANK3属于SHANK家族蛋白,位于谷氨酸能突触后致密部,是组织和连接中间支架蛋白的主支架蛋白^[1]。人类遗传学相关研究证明了SHANK3基因与ASD之间的关联^[2]。

ASD是以社交缺陷和重复刻板行为为特征的神经发育障碍,并伴有包括智力残疾、运动障碍、癫痫、多动和焦虑等在内的共病。神经元突触输入和神经回路中的兴奋性(Excitation)与抑制性(Inhibition)之间的平衡(E-I平衡)对于正常的大脑发育和功能非常重要,是ASD疾病发生的可能机制之一。对ASD人或动物模型各脑区E-I平衡的相关研究能够帮助理解ASD疾病的发病机制,并进一步发现重要的治疗靶点。本文综述了SHANK3基因缺陷ASD鼠类模型中枢E-I平衡变化相关研究的结果,并分析其与行为学和蛋白分子之间的联系,在ASD疾病发生机制及治疗靶点等研究方面具有重要意义。

1 SHANK3基因

SHANK3在人类中定位于第22号染色体,22q13.3区段,有22个外显子,跨越60 kb的DNA区段。SHANK3在中枢神经系统的大脑皮层、纹状体、海马、丘脑、杏仁核、小脑中大量表达^[1]。

SHANK3的全长包含六个蛋白质相互作用的结构域(图1),分别为:功能未知的蛋白535(DUF535);4~9号外显子编码的锚定蛋白重复序列(ankyrin repeat, ANK)结构域;11~12号外显子编码的SH3(SRC homology 3)结构域;13~16号外显子编码的PDZ(PSD95-DLG1-ZO1)结构域;21号外显子编码的富含脯氨酸结构域(proline rich, PRO);C末端22号外显子编码的SAM(sterile alpha motif)结构域^[3]。SHANK3蛋白的各结构域可以与多种突触蛋白分子

相互作用,从而参与突触形成、突触传递以及可塑性等过程(图2)。位于N末端的ANK结构域可以与突触后致密部的SHARPIN蛋白、血红蛋白 α 链的非促红细胞生成素1(SPTAN1,又称 α -Fodrin)相互作用,从而与突触后的细胞骨架结合;PDZ结构域与SAP90/PSD95相关蛋白1(SAPAP1,也称GKAP1)以及AMPA受体亚基GluA1相互作用,促进树突棘的形成和突触的传递^[4];PRO结构域与Homer、Cortactin蛋白相结合,在突触细胞骨架的形成以及突触可塑性方面发挥重要作用^[5];位于C末端的SAM结构域是一种同源多聚体,参与SHANK3蛋白在突触后致密部的定位^[6]。除此之外,仍有很多位置已知或未知的SHANK3各结构域与其他蛋白的相互作用,共同参与调节突触功能。

通过Phelan-McDermid综合征(PMS)的研究发现,SHANK3基因与神经发育障碍之间存在关联。Phelan-McDermid综合征是一种由22q13.3缺失引起的神经发育障碍,其特征是肌张力减退、语言功能缺陷、脑部畸形以及ASD样行为^[6]。在几乎所有报道的PMS病例中,SHANK3基因均缺失^[7]。大量人类遗传学研究也强烈支持SHANK3基因与ASD之间的关联。一项关于ASD患者的meta分析发现,约1%的ASD患者发生了SHANK3基因突变^[2]。Uchino和Waga^[8]在134名具有特定表型的ASD患者中的13人(即约10%)中观察到了SHANK3基因的缺失或突变。此外,大量SHANK3基因突变动物模型的相关研究均证实了SHANK3与ASD之间紧密的联系。

2 兴奋抑制(E-I)平衡与ASD

2.1 中枢神经系统E-I平衡

中枢神经系统(central nervous system, CNS)作为神经系统的主体部分,是生物体中调节各项生理功能的神经元群,如感觉、运动、语言中枢等。中枢神经系统的主要功能是接受来自机体全身各处的传入信息,经过其整合与加工后成为协调运动性输出,有的则在中枢神经系统内储存下来成为了学习和记忆的神经基础,然后,通过产生各种心理活动

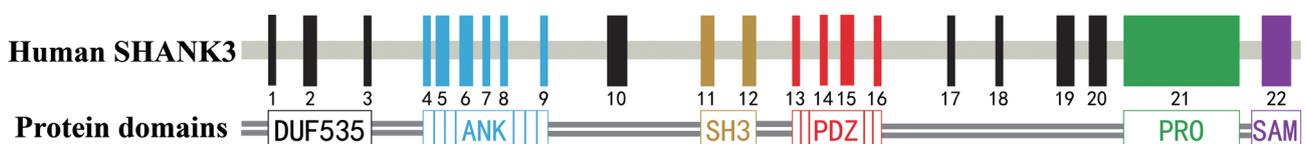


图1 SHANK3基因结构图

来支配和控制生物体的各种行为表现。大脑正常功能的实现依赖于中枢神经系统内兴奋与抑制的动态平衡，这种平衡是大脑进行正常生理活动及相关神经系统疾病治疗的基础。

每个神经元均可与成百上千个神经元形成突触联系，在单个神经元水平上(图3A)，单个皮质锥体神经元上兴奋性和抑制性突触的数量受到高度调控，该过程可重复产生跨树突段兴奋性、抑制性突触，使两者维持相对不变的比率^[9]。类似地，在大规模皮层回路的水平上(图3B)，兴奋性和抑制性

皮层神经元的比例受多重发育过程的精确控制^[10]。因此，在长时间内，存在在单细胞和皮质区域水平上维持E-I的动态平衡和发育过程。从全局的角度来看，即将兴奋和抑制视为单一实体，如果兴奋水平超过抑制水平，那么电流活动将会增加，直至达到最大值，或者电流活动增加使电路招募更多的抑制，产生一种“平衡”状态。相反，如果抑制水平超过兴奋水平，电流活动就会下降，直到电路处于静止状态，或者直到抑制水平降低，与兴奋达成一定的整体平衡。

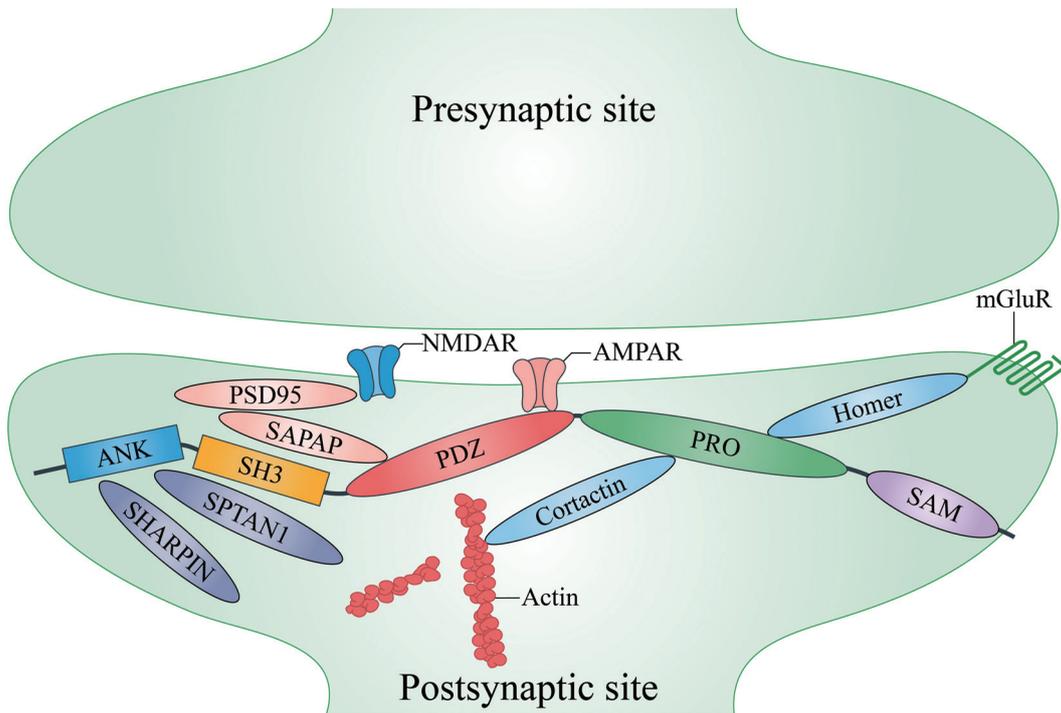
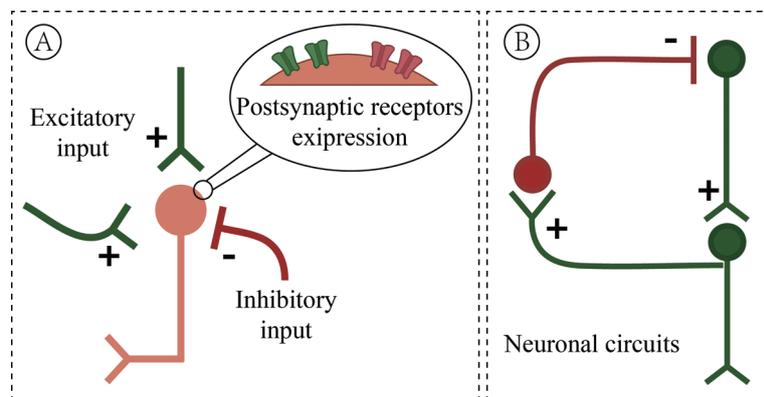


图2 突触后与SHANK3相互作用的蛋白(依据Monteiro等^[11], 2017)



(A)兴奋性和抑制性神经元相互作用源于兴奋性和抑制性输入在神经元上的汇聚，以及突触后谷氨酸(绿色)和γ-氨基丁酸(红色)受体的表达水平。(B)兴奋性、抑制性传递在环路中的汇聚。

图3 E-I平衡的神经环路机制示意图(依据Culotta等^[11], 2020)

突触后电流的变化是反映 E-I 平衡的重要指标之一, 兴奋性突触后电流 (EPSC) 和抑制性突触后电流 (IPSC) 的变化可以反映突触后的电位变化、突触自身稳态以及 E-I 平衡状态。其频率主要反映突触前递质的释放情况, 幅度反映突触后受体的功能。研究中枢神经系统各核团的 E-I 平衡, 对于揭示脑高级功能的机制和开发治疗神经系统疾病的新方法具有重要意义。

2.2 E-I失衡是ASD的普遍特征

中枢神经系统 E-I 失衡与各种脑部疾病有关, 包括 ASD^[12]。Rubenstein 和 Merzenich^[13] 最早提出了一个假设, 即感觉、记忆、社交和情绪系统中 E/I 比值的增加 (即兴奋性增强或抑制性减弱) 会导致 ASD。从那时起, 大量的临床和神经生物学数据开始积累起来, 以支持和完善这一假说。Edgar 等^[14] 发现, ASD 患者大脑颞叶诱发的 γ 波段的频率降低, 这表明 ASD 患者抑制性 GABA 能神经元的活性降低。对 ASD 死亡患者的尸检研究发现, ASD 患者大脑顶叶、小脑和额叶区域的 GABA 受体减少^[15]。此外, 大量的 ASD 动物模型的相关研究也证明了 E/I 比值的增加。Selimbeyoglu 等^[16] 研究发现, CNTNAP2 基因缺失的 ASD 小鼠模型前额叶皮层的中间神经元 (PV) 募集缺陷, 由于 PV 神经元是抑制性突触的结构基础, 从而引起抑制性功能受损, 进而导致 E/I 的增加。在其他 ASD 动物模型中也发现类似的情况, 如 Scn1a-KO 小鼠^[17]、BTBR 突变小鼠^[18]、Arid1b-KO 小鼠^[19]、Tsc1-KO 小鼠^[20]、MECP2-KO 小鼠^[21] 等。

而随着研究的推进与深入, 研究者们提出了另一个相反的假设, 即有一些 ASD 患者的特征是 E/I 比值的降低。Coskun 等^[22] 的研究发现, ASD 患者的初级皮层的突触连接性较低, 这代表了局部兴奋性连接的减少, 而 ASD 患者对感觉刺激的反应较低, 证明了其躯体感觉皮层的较高抑制性水平。Dickinson 等^[23] 对 ASD 患者脑电 (EEG) 相关研究发现, ASD 患者具有较高的峰值 γ 频率以及较低的方位辨别阈, 进一步证实了 ASD 与神经抑制水平的增加是同时发生的。与此同时, ASD 动物模型的相关研究也发现了其不同脑区兴奋性的降低或抑制性的增强导致 E/I 比值的下降。Dani 等^[24] 发现 MECP2 突变的小鼠模型兴奋性突触后电流 (mEPSCs) 的降低。Greer 等^[25] 的研究也发现 Ube3A- KO 小鼠 AMPA 受体数量显著减少, 从而降低了 mEPSCs 的频率。

虽然在 ASD 患者和 ASD 动物模型中发现的 E-I 平衡失调的方向不是单向的, 但至少可以证明 E-I

失衡是 ASD 疾病的共性特征。以往的研究已经证明了大脑各脑区的 E-I 平衡与感觉、记忆、运动、癫痫等各种复杂认知功能或行为表现之间存在密切的联系, 因此研究 ASD 患者或动物模型各脑区 E-I 平衡的机制对于理解和临床治疗 ASD 症状有很大的帮助。

3 SHANK3基因与中枢E-I平衡

SHANK3 蛋白是 PSD 结构的主支架蛋白, 其将神经递质受体、其他膜蛋白与信号分子和肌动蛋白细胞骨架连接起来。通过与各蛋白及分子的相互作用, SHANK3 蛋白为 G 蛋白介导的信号和树突棘中钙稳态的控制提供了信号平台^[26]。此外, 它们还参与突触形态变化, 调控树突棘的成熟和突触的形成, 其缺失会引起突触可塑性变化, 包括神经元形态、神经递质释放及神经受体表达, 甚至细胞内遗传物质表达的改变, 故而 SHANK3 基因的缺陷会导致 CNS 各脑区突触信号的改变。SHANK3 基因缺陷的人和动物模型呈现出 ASD 的症状, 这些症状的发生与各个脑区的 E-I 平衡密切相关。

Shcheglovitov 等^[27] 对 SHANK3 基因缺陷人类患者的神经元进行体外培养, 记录到的自发性 EPSCs 的幅度和频率显著低于对照组, 进一步研究发现 AMPA 与 NMDA 介导的 EPSCs 均发生了显著下降, 表明 AMPA 和 NMDA 介导的兴奋性突触传递受损。Yi 等^[28] 通过神经元体外培养实验发现, SHANK3 基因缺失的杂合子和纯合子神经元均呈现输入电阻大幅度增加, EPSCs 和自发微型 EPSCs (mEPSCs) 的幅度明显下降, 神经元的电容降低, mEPSC 频率显著下降。

这些人或动物神经元体外培养的研究证明了 SHANK3 基因缺陷对于兴奋性突触传递的破坏。此外, 大量 SHANK3 基因突变动物模型的相关研究发现了其行为异常与不同脑区 E-I 平衡的变化密切相关 (表 1)。

3.1 海马脑区

海马作为参与学习、记忆和情绪调控的重要脑区, 是 ASD 疾病发病重要的异常脑区之一^[44]。海马位于丘脑和内侧颞叶之间, 是边缘系统的重要组成部分, 在情绪、恐惧、学习和记忆的各个方面都起着关键作用。海马与 ASD 疾病的社交、学习记忆和焦虑等认知功能密切相关。

海马的主要信号输入来自内嗅皮层, 信号输出主要是起自 CA1 区。其通过齿状回与海马 CA3 区

表1 SHANK3基因突变鼠类模型行为学及不同脑区E-I平衡变化

| 突变位点 | 纯/杂合子 | 物种 | 脑区 | EPSC | | IPSC | | 社交行为 | 刻板行为 | 运动能力 | 记忆功能 | 参考文献 |
|----------|-------|----|-----|------|----|------|----|------|------|------|------|---------|
| | | | | 频率 | 振幅 | 频率 | 振幅 | | | | | |
| 4-9 KO | 杂 | 小鼠 | CA1 | ↑ | ↓ | NA | | + | + | - | - | [29-30] |
| | 纯 | | CA1 | - | - | - | - | + | + | + | - | [31] |
| 9 KO | 纯 | | CA1 | - | - | ↑ | - | - | - | NA | + | [32] |
| | | | PFC | - | - | ↓ | - | | | | | |
| 13-16 KO | 纯 | | CA1 | - | - | NA | | + | + | - | - | [33] |
| | | | STR | ↓ | ↓ | | | | | | | |
| | | | ACC | ↓ | ↓ | | | | | | | |
| 14-16 KO | 纯 | | STR | ↓ | ↓ | - | - | - | + | NA | | [34] |
| 4-22 KO | 杂 | | NA | | | | | - | - | - | - | [35] |
| | 纯 | | STR | ↓ | - | NA | | + | + | + | + | [36] |
| 21 KO | 杂 | | PFC | NA | ↓ | | | + | + | - | - | [37-39] |
| | | | CA1 | NA | ↓ | | | | | | | |
| 21 KI | 纯 | | CA1 | ↓ | - | | | + | + | + | + | [38] |
| | 杂 | | CA1 | - | - | | | - | + | + | + | [40] |
| 8 KI | 纯 | | CA1 | - | - | - | - | - | - | - | - | [41] |
| | | | STR | - | - | - | - | | | | | |
| OE | 纯 | | CA1 | - | ↑ | ↓ | - | + | - | NA | | [42] |
| 11-21 KO | 纯 | 大鼠 | CA1 | NA | ↓ | NA | | + | + | NA | + | [43] |

注：“+”表示行为异常，“-”表示不存在异常行为，“NA”表示文章未提及，“↑”表示升高，“↓”表示降低；CA1：海马CA1区；STR：纹状体；PFC：前额叶皮层；ACC：前扣带回皮层。

连接。CA3 区通过 Schaeffer 侧支 (SC) 和对侧海马的连合纤维 (Comm) 与 CA1 锥体细胞联系 (图 4)。这些通路中的主要神经递质是兴奋性递质 Glu。海马中的主要抑制性神经递质是 GABA。当从锥体层记录时，通过刺激 SC 会产生单个诱发电位，诱发电位中不仅包含一串兴奋序列，还跟随一串抑制序列。这种抑制是通过抑制性中间神经元的前馈和反

馈联系产生的。

由于海马脑区的功能主要受 Glu 主导的兴奋性信号传递和 GABA 主导的抑制性信号传递的影响，故而海马脑区的正常功能依赖于其 E-I 的平衡。ASD 的相关研究发现，海马脑区 E-I 平衡的变化与社交记忆、学习记忆以及情绪调节相关。故而大量基因缺陷 ASD 动物模型的研究将海马作为主要脑区，通过分析海马脑区的异常，讨论 ASD 样行为发生的中枢相关机制。

由于 SHANK3 基因主要定位于兴奋性突触后致密部，因此研究者们更关注兴奋性突触传递的变化。SHANK3 基因不同位点的突变均会导致不同程度的功能缺陷。SHANK3 基因 4~9 号外显子缺失的杂合子小鼠模型海马 CA1 区 Glu 能突触传递异常，主要表现在海马 CA1 区 mEPSC 幅度的降低^[30]。在 4~9 号外显子缺失的纯合子小鼠中并未发现海马 CA1 区单个神经元 mEPSC 的变化，然而在场电位水平发现了兴奋性传递的降低^[31]。21 号外显子缺失的杂合子小鼠模型^[39]海马 CA1 区 NMDAR-EPSC 显著降低。在一些 SHANK3 基因插入突变的动物模型中，EPSC 也发生一些改变。21 号外显子插入突变的小鼠模型^[40]海马 CA1 区 mEPSC 的频率降

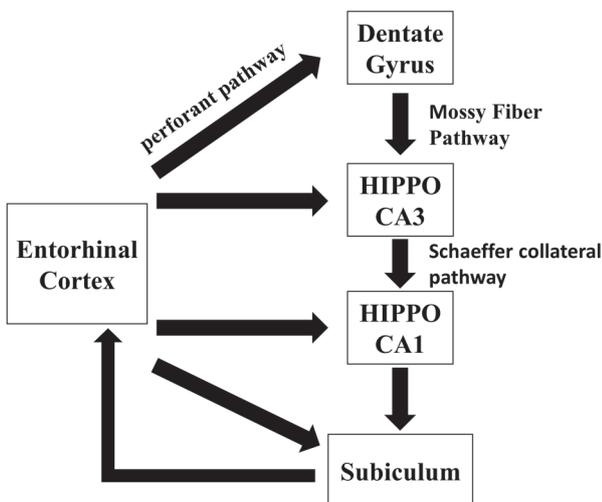


图4 海马脑区信号传递示意图

低, 幅度却没有变化。SHANK3 过表达的小鼠模型海马 CA1 区的 sEPSC 幅度显著升高^[42]。

关于 SHANK3 基因突变动物模型海马脑区抑制性突触传递的相关研究较少, 且在 mIPSC 幅度上均未发现有显著变化, 但在频率上却有所改变。9 号外显子缺失的 SHANK3 小鼠模型^[40]和 SHANK3 过表达小鼠模型^[42]海马 CA1 区 mIPSC 频率显著降低。

从整体上看, SHANK3 基因不同位点的突变对海马脑区 E-I 信号均有不同程度的影响, 尤其是兴奋性的突触传递功能受损, 而对抑制性突触传递的影响较小, 故而导致 E/I 比值的降低从而引起海马脑区功能的失调, 在行为上表现出社交功能、认知功能等方面的障碍。相反 SHANK3 的过表达则会产生相反的影响, 引起兴奋性传递的过度增强, 从而引起 E/I 比值的升高。

3.2 纹状体脑区

异常纹状体环路已经被证明与多种神经发育障碍疾病相关, 包括精神分裂症^[45]、强迫症^[46]和 ASD 等^[47]。ASD 疾病的多种症状与纹状体脑区功能密切相关。纹状体是中枢神经系统重要的组成部分, 其整合了来自皮层、丘脑、脚桥核 (pedunculo-pontine nucleus, PPN) 等不同脑区的信息以及黑质致密部和腹侧被盖区的多巴胺系统的信息。基于纹状体的功能和连接可以将其细分为腹侧纹状体和背侧纹状体。腹侧纹状体主要包括伏隔核和嗅结节, 背侧纹状体由尾状核和壳核组成。这两部分分别形成背侧纹状体通路和伏隔核纹状体通路, 调节不同的功能。背侧纹状体通路主要介导运动、执行功能等, 与 ASD 患者的刻板行为、重复动作和运动功能障碍具有潜在的联系^[48]。伏隔核纹状体通路主要介导奖赏、认知、目标导向等, 与 ASD 的强迫行为、僵化思维、执行功能以及异常的社会相处模式相关^[48]。

纹状体中 95% 的神经元都属于中棘状神经元 (medium spiny neuron, MSN), 也称为棘突状投射神经元 (spiny projection neurons, SPN), 是一种特殊的 GABA 能抑制神经元。MSN 有两个主要的表型 (特性类型): D1 型的直接通路 (皮层 - 纹状体 - 黑质网状区 - 丘脑 - 大脑皮质) 的 MSN 和 D2 型的间接通路 (皮层 - 纹状体 - 苍白球外侧区 - 丘脑底核 - 苍白球内侧区 - 丘脑 - 大脑皮质) 的 MSN^[49] (图 5), D1DR 易化直接环路传递, 而 D2DR 减弱间接环路传递。纹状体 MSN 调控的两条通路与 ASD 疾病的刻板行为和运动障碍密切相关。

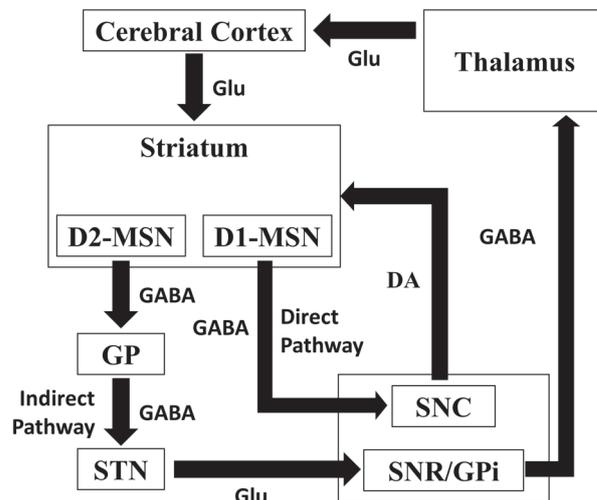


图5 纹状体脑区信号传递示意图

纹状体的这些通路中包含了皮层对 MSN 和丘脑底核对黑质网状部 / 苍白球内侧部的兴奋性 Glu 传递, 以及黑质致密部对 MSN 的兴奋性 DA 传递, 其他均为抑制性 GABA 传递。因此, 纹状体脑区的 E-I 平衡对于其功能的实现也至关重要, 纹状体脑区的 E-I 失衡是 ASD 疾病的重要发病机制之一。

SHANK3 基因缺失动物模型纹状体脑区 E-I 平衡的研究均发现了兴奋性传递功能的缺陷。13~16 号外显子缺失^[33]和 14~16 号外显子缺失^[35]的纯合子小鼠纹状体脑区 EPSC 的频率幅度均显著下降, 4~22 号外显子缺失^[36]的纯合子小鼠模型纹状体脑区 EPSC 的频率下降, 但幅度却无显著变化。Wang 等^[50]对 SHANK3 基因 13~16 号缺失的杂合子小鼠模型的深入研究发现, 其纹状体 MSN 的 E-I 平衡与重复刻板行为密切相关, 通过激动剂提高 D2-MSNs 的活性 (即提高其 EPSC), 可以缓解 SHANK3B-KO 小鼠的重复梳理行为, 这也进一步印证了纹状体的 E-I 平衡与 ASD 刻板行为之间的联系。虽然 SHANK3 在纹状体脑区表达最丰富^[1], 但关于 SHANK3 基因突变 ASD 动物模型纹状体 E-I 平衡的相关研究较少。

3.3 皮层

大脑皮层在大脑半球的最外层, 折叠成回旋的沟回状, 有多个区域。关于 ASD 患者磁共振成像 (MRI)、脑电等结构功能性相关研究发现, 在大脑皮层众多区域中, 前额叶皮层、颞叶皮层、顶叶运动中枢等是探究 ASD 疾病发生异常的关键区域。大脑皮层不仅能处理传入的感觉信息, 还接收来自下游核团的反馈信号。大脑皮层接收和传递来自多

个核团的信号,包括海马、纹状体、下丘脑等,构成了复杂的信号传递网络。而这些信号的传递依赖于 Glu 介导的兴奋性信号和 GABA 介导的抑制性信号。大脑皮层的 E-I 平衡的破坏也是 ASD 疾病发生的重要因素之一。

有研究者对 SHANK3 基因敲除动物模型皮层 E-I 信号传递进行了研究发现,9 号外显子缺失的纯合子小鼠模型前额叶皮层锥体 (PV) 神经元 EPSC 无变化,但 IPSC 频率显著降低^[32]。21 号外显子缺失的杂合子小鼠模型前额叶皮层 NMDAR 介导的 EPSC 幅度显著降低^[39]。此外,还有研究者对 13~16 号外显子缺失纯合子小鼠的前扣带回进行了研究,发现 EPSC 的频率和幅度均发生了显著降低^[34]。前额叶皮层在语言、记忆、认知灵活性等认知功能方面具有重要作用,前扣带回皮层则在注意、奖赏、决策、情感控制等多方面起着关键作用^[51]。故前额叶皮层和前扣带回皮层 E-I 信号传递的平衡对于其正常功能的实现至关重要。在发现前额叶皮层和前扣带回皮层 E-I 失衡的 SHANK3 基因突变动物模型中均出现了社交、记忆、焦虑等认知功能相关的异常。

4 总结与展望

综上所述,SHANK3 基因不同位点的突变均可引起中枢神经系统不同核团 E-I 平衡的变化,涉及的核团有海马、纹状体、前额叶皮层和前扣带回皮层等。其机制是通过影响兴奋性突触 PSD 的结构、树突棘的形态功能和 Glu 受体的表达从而引起不同核团 E-I 平衡的改变。不同核团的 E-I 失衡与 ASD 的相关行为之间也具有一定的联系。因此,通过突变 SHANK3 基因构建动物模型可以模拟临床 ASD 的疾病特征,可作为 ASD 疾病的良好动物模型。

虽然 SHANK3 基因在纹状体中的表达最为丰富,在皮层中也丰富表达,且纹状体脑区和皮层功能与 ASD 疾病的症状之间具有密不可分的联系,然而对 SHANK3 基因突变鼠类模型的研究大多还是集中在海马脑区,纹状体脑区和皮层的相关研究较少。目前已有研究通过激动剂增加兴奋性突触传递的方法对 SHANK3 基因突变的动物模型进行干预,并取得了一定的进展,但相关研究仍较少,故后续相关研究以此为重要的治疗靶点,通过对不同脑区的靶向干预,探究其与 ASD 行为之间的联系,并探讨逆转相关的行为缺陷的可能性。

以往 SHANK3 基因敲除动物模型多采用小鼠,

不可避免地存在种属的局限性,与小鼠模型相比,转基因大鼠模型具有更好的物种特异性优势,可以执行更复杂和更广泛的行为测试,并更多、更精确地研究大脑各个区域的相关机制,且大鼠是药理学研究的典型模型,更便于进行后续的干预治疗的相关研究。本研究团队前期构建了 11~21 号外显子缺失的大鼠模型^[43],在纯合子模型中,我们已成功模拟了孤独症的核心症状。此外,对海马脑区的研究发现,随着海马 CA1 区 fEPSC 斜率的降低,树突棘密度显著降低,纹状体 GluA1 显著降低。后续,我们将进一步对运动功能障碍及纹状体 E-I 平衡进行深入的研究与探讨。

[参 考 文 献]

- [1] Monteiro P, Feng GP. SHANK proteins: roles at the synapse and in autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci*, 2017, 18: 147-57
- [2] Leblond CS, Nava C, Polge A, et al. Meta-analysis of SHANK mutations in autism spectrum disorders: a gradient of severity in cognitive impairments. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004580
- [3] Costales JL, Kolevzon A. Phelan-McDermid syndrome and SHANK3: implications for treatment. *Neurotherapeutics*, 2015, 12: 620-30
- [4] Piao LH, Chen Z, Li QY, et al. Molecular dynamics simulations of wild type and mutants of SAPAP in complexed with Shank3. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 224
- [5] Sarowar T, Grabrucker AM. Actin-dependent alterations of dendritic spine morphology in Shankopathies. *Neural Plast*, 2016, 2016: 8051861
- [6] Jaramillo TC, Speed HE, Xuan Z, et al. Altered striatal synaptic function and abnormal behaviour in Shank3 exon4-9 deletion mouse model of autism. *Autism Res*, 2016, 9: 350-75
- [7] Filice F, Vörckel KJ, Sungur A, et al. Reduction in parvalbumin expression not loss of the parvalbumin-expressing GABA interneuron subpopulation in genetic parvalbumin and shank mouse models of autism. *Mol Brain*, 2016, 9: 10
- [8] Uchino S, Waga C. SHANK3 as an autism spectrum disorder-associated gene. *Brain Dev*, 2013, 35: 106-10
- [9] Sohal VS, Rubenstein JLR. Excitation-inhibition balance as a framework for investigating mechanisms in neuropsychiatric disorders. *Mol Psychiatry*, 2019, 24: 1248-57
- [10] Hengen KB, Lambo ME, Van Hooser SD, et al. Firing rate homeostasis in visual cortex of freely behaving rodents. *Neuron*, 2013, 80: 335-42
- [11] Culotta L, Penzes P. Exploring the mechanisms underlying excitation/inhibition imbalance in human iPSC-derived models of ASD. *Mol Autism*, 2020, 11: 32
- [12] Nelson SB, Valakh V. Excitatory/inhibitory balance and circuit homeostasis in autism spectrum disorders. *Neuron*, 2015, 87: 684-98

- [13] Rubenstein JL, Merzenich MM. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems. *Genes Brain Behav*, 2003, 2: 255-67
- [14] Edgar JC, Khan SY, Blaskey L, et al. Neuromagnetic oscillations predict evoked-response latency delays and core language deficits in autism spectrum disorders. *J Autism Dev Disord*, 2015, 45: 395-405
- [15] Dickinson A, Jones M, Milne E. Measuring neural excitation and inhibition in autism: different approaches, different findings and different interpretations. *Brain Res*, 2016, 1648: 277-89
- [16] Selimbeyoglu A, Kim CK, Inoue M, et al. Modulation of prefrontal cortex excitation/inhibition balance rescues social behavior in CNTNAP2-deficient mice. *Sci Transl Med*, 2017, 9: eaah6733
- [17] Liu S, Jin Z, Zhang Y, et al. The glucagon-like peptide-1 analogue Liraglutide reduces seizures susceptibility, cognition dysfunction and neuronal apoptosis in a mouse model of dravet syndrome. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 136
- [18] Cristiano C, Pirozzi C, Coretti L, et al. Palmitoylethanolamide counteracts autistic-like behaviours in BTBR T+tf/J mice: contribution of central and peripheral mechanisms. *Brain Behav Immun*, 2018, 74: 166-75
- [19] Jung EM, Moffat JJ, Liu J, et al. Arid1b haploinsufficiency disrupts cortical interneuron development and mouse behavior. *Nat Neurosci*, 2017, 20: 1694-707
- [20] Benthall KN, Ong SL, Bateup HS. Corticostriatal transmission is selectively enhanced in striatonigral neurons with postnatal loss of Tsc1. *Cell Rep*, 2018, 23: 3197-208
- [21] Morello N, Schina R, Pilotto F, et al. Loss of Mecp2 causes atypical synaptic and molecular plasticity of parvalbumin-expressing interneurons reflecting Rett syndrome-like sensorimotor defects. *Eneuro*, 2018, 5: 0086-18
- [22] Coskun MA, Loveland KA, Pearson DA, et al. Functional assays of local connectivity in the somatosensory cortex of individuals with autism. *Autism Res*, 2013, 6: 190-200
- [23] Dickinson A, Bruyns-Haylett M, Jones M, et al. Increased peak gamma frequency in individuals with higher levels of autistic traits. *Eur J Neurosci*, 2015, 41: 1095-101
- [24] Dani VS, Chang Q, Maffei A, et al. Reduced cortical activity due to a shift in the balance between excitation and inhibition in A mouse model of Rett syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 12560-5
- [25] Greer PL, Hanayama R, Bloodgood BL, et al. The Angelman Syndrome protein Ube3A regulates synapse development by ubiquitinating arc. *Cell*, 2010, 140: 704-16
- [26] Roussignol G, Ango F, Romorini S, et al. Shank expression is sufficient to induce functional dendritic spine synapses in aspiny neurons. *J Neurosci*, 2005, 25: 3560-70
- [27] Shcheglovitov A, Shcheglovitova O, Yazawa M, et al. SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients. *Nature*, 2013, 503: 267-71
- [28] Yi F, Danko T, Botelho SC, et al. Autism-associated SHANK3 haploinsufficiency causes Ih channelopathy in human neurons. *Science*, 2016, 352: aaf2669
- [29] Yang M, Bozdagi O, Scattoni ML, et al. Reduced excitatory neurotransmission and mild autism-relevant phenotypes in adolescent Shank3 null mutant mice. *J Neurosci*, 2012, 32: 6525-41
- [30] 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. *Mol Autism*, 2010, 1: 15
- [31] Wang XM, McCoy PA, Rodriguiz RM, et al. Synaptic dysfunction and abnormal behaviors in mice lacking major isoforms of Shank3. *Hum Mol Genet*, 2011, 20: 3093-108
- [32] Lee J, Chung C, Ha S, et al. Shank3-mutant mice lacking exon 9 show altered excitation/inhibition balance, enhanced rearing, and spatial memory deficit. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 94
- [33] Peca J, Feliciano C, Ting JT, et al. Shank3 mutant mice display autistic-like behaviours and striatal dysfunction. *Nature*, 2011, 472: 437-42
- [34] Guo B, Chen J, Chen Q, et al. Anterior cingulate cortex dysfunction underlies social deficits in Shank3 mutant mice. *Nat Neurosci*, 2019, 22: 1223-34
- [35] Yoo T, Cho H, Lee J, et al. GABA neuronal deletion of Shank3 exons 14-16 in mice suppresses striatal excitatory synaptic input and induces social and locomotor abnormalities. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 341
- [36] Bey AL, Wang XM, Yan HD, et al. Brain region-specific disruption of Shank3 in mice reveals a dissociation for cortical and striatal circuits in autism-related behaviors. *Transl Psychiatry*, 2018, 8: 94
- [37] Qin LY, Mal K, Wang ZJ, et al. Social deficits in Shank3-deficient mouse models of autism are rescued by histone deacetylase (HDAC) inhibition. *Nat Neurosci*, 2018, 21: 564-75
- [38] Ma K, Qin L, Matas E, et al. Histone deacetylase inhibitor MS-275 restores social and synaptic function in a Shank3-deficient mouse model of autism. *Neuropsychopharmacology*, 2018, 43: 1779-88
- [39] Duffney LJ, Zhong P, Wei J, et al. Autism-like deficits in Shank3-deficient mice are rescued by targeting actin regulators. *Cell Rep*, 2015, 11: 1400-13
- [40] Speed HE, Kouser M, Xuan Z, et al. Autism-associated insertion mutation (InsG) of Shank3 exon 21 causes impaired synaptic transmission and behavioral deficits. *J Neurosci*, 2015, 35: 9648-65
- [41] Yoo YE, Yoo T, Lee S, et al. Shank3 mice carrying the human Q321R mutation display enhanced self-grooming, abnormal electroencephalogram patterns, and suppressed neuronal excitability and seizure susceptibility. *Front Mol Neurosci*, 2019, 12: 155
- [42] Han K, Holder JL, Schaaf CP, et al. SHANK3 overexpression causes manic-like behaviour with unique pharmacogenetic properties. *Nature*, 2013, 503: 72-7
- [43] Song TJ, Lan XY, Wei MP, et al. Altered behaviors and impaired synaptic function in a novel rat model with a complete Shank3 deletion. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13: 111

- [44] Chaddad A, Desrosiers C, Hassan L, et al. Hippocampus and amygdala radiomic biomarkers for the study of autism spectrum disorder. *BMC Neurosci*, 2017, 18: 52
- [45] McCutcheon RA, Abi-Dargham A, Howes OD. Schizophrenia, dopamine and the striatum: from biology to symptoms. *Trends Neurosci*, 2019, 42: 205-20
- [46] Piantadosi SC, Chamberlain BL, Glausier JR, et al. Lower excitatory synaptic gene expression in orbitofrontal cortex and striatum in an initial study of subjects with obsessive compulsive disorder. *Mol Psychiatry*, 2021, 26: 986-98
- [47] Li W, Pozzo-Miller L. Dysfunction of the corticostriatal pathway in autism spectrum disorders. *J Neurosci Res*, 2020, 98: 2130-47
- [48] Fuccillo MV. Striatal circuits as a common node for autism pathophysiology. *Front Neurosci*, 2016, 10: 27
- [49] Gagnon D, Petryszyn S, Sanchez MG, et al. Striatal neurons expressing D1 and D2 receptors are morphologically distinct and differently affected by dopamine denervation in mice. *Sci Rep*, 2017, 7: 41432
- [50] Wang WT, Li CC, Chen Q, et al. Striatopallidal dysfunction underlies repetitive behavior in Shank3-deficient model of autism. *J Clin Invest*, 2017, 127: 1978-90
- [51] Sevinc G, Gurvit H, Spreng RN. Salience network engagement with the detection of morally laden information. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 2017, 12: 1118-27