

孤独症研究新进展

李瑞锡¹ 江开达^{2,3} 彭裕文^{1Δ}

(1 复旦大学上海医学院人体解剖与组织胚胎学系; 2 复旦大学附属华山医院, 3 上海市精神卫生中心 上海 200032)

认识孤独症 孤独症(autism), 又称自闭症或孤独性障碍(autistic disorder)等, 是广泛性发育障碍(pervasive developmental disorders, PDD)的代表性疾病。《DSM-IV-TR》将 PDD 分为 5 种: 孤独性障碍、Retts 综合征、童年瓦解性障碍、Asperger 综合征和未特定的 PDD。其中, 孤独性障碍与 Asperger 综合征较为常见。孤独症的患病率报道不一, 一般认为约为儿童人口的 2~5/万人, 男女比例约为 3:1~4:1, 女孩症状一般较男孩严重^[1]。

孤独症的临床表现 孤独症的症状极为广泛, 包括情感、认知、社交及适应行为等多方面异常。症状的轻重程度差异很大。轻症者的社会交往、语言及行为等方面的异常都不明显, 有时很难被认为是疾病, 更像是性格问题。重症者出现多种心理功能损害, 但一般不出现妄想、幻觉及思维散漫等精神分裂症的症状。

孤独症患者与他人(包括父母)不够亲密, 对人情温暖, 甚至是母爱, 反应冷漠。患者言语及非言语的理解能力低下。缺乏语言表达能力, 常有模仿性言语且语意不清, 不能正确理解词性, 错用代词、名词或动词。严重者语言能力发育明显迟滞, 甚至不发育, 语义形成能力低下, 有的患者甚至会制造只有其本人才能懂的词汇。行为举止方面, 常出现仪式样动作、刻板行为、奇异行为及自伤、自残性行为等。有时会对某一特定物体表现出特殊依恋, 不许他人触及。患者通常情感淡漠, 但有时也会情绪反应过度, 特别是在别人动了他不许动的东西时, 情绪会异常冲动。患者认知功能障碍, 表现为抽象能力、衔接概念及整合能力的损害。患者还常出现神经功能损害的症状, 如嗅觉、味觉和触觉的异常, 以及视觉或听觉加工能力的发育不全。有 15%~50% 的孤独症患者伴有癫痫发作^[1]。大多数孤独症患儿的智商都很低, 但有些患者却在绘画、音乐或计算等方面有着超常的表现能力, 此类患者被称作“高功能孤独症患者”。

孤独症起病于 3 岁之前, 在婴儿早期即有症状, 但症状不易被察觉, 家长往往不能及时发现。其症状随年龄增长可慢慢地自行改善, 但病程发展并无规律性。通过系统的行为训练和特殊教育, 有 2%~15% 的患者认知和适应能力可接近常人^[1], 生活能自理, 但仍存在一些刻板行为和言语表达障碍等表现; 性格孤僻、不愿与人接触的特点则不易纠正。

对孤独症的认识过程 临床上首次描述孤独症是在 20 世纪 40 年代。1943 年, 美国医生 Kanner^[2] 报道了 11 例患者, 并命名为“早期婴儿孤独症”(early infantile autism)。他当时描述这个类群的患者特征如下: 严重缺乏与他人的情感接触; 怪异的、重复性的仪式性行为; 缄默或语言显著异常; 高水平的视觉——空间技巧或机械记忆能力与在其他方面

学习困难形成对比; 聪明、机敏且具有吸引力的外貌表现^[3]。最初, Kanner 报道的这类患者被认为是儿童精神分裂症的一个亚型而未受重视。在 20 世纪 40~60 年代, 又有数人描述了与 Kanner 报道相似的病例, 并冠以各种各样的名称。当时的国际及美国精神病分类与诊断标准将这类患者归入“儿童分裂样反应”类别中。对于孤独症的病因学, 当时普遍认为认为是父母养育方式不当造成了孤独症的发生。Kanner 将孤独症患儿的父母描述成一群高学历的、事业心很强但又冷漠无情的人, 这一观点在当时似乎很少有异议。

20 世纪 60~70 年代, Rutter 的研究指出, 孤独症的行为如果被认为是从出生到童年早期的发育障碍所致则更为合情合理。由此, 逐渐把孤独症看作为是一种躯体性的、与父母抚育方式无任何关联的发育障碍。在此时期, Lotter^[4] 发表了新的孤独症诊断标准, 强调把社会交互作用、言语与交流 and 重复性活动三个方面作为基本标准, 并舍弃了 Kanner 诊断标准中关于“特殊技能和吸引人的外貌”等两项。以后, 在 Lotter 标准的基础上, 开展了广泛的流行病学调查研究。现在所普遍接受的“孤独症发病率 4~5/万”是当时最重要的研究成果。

20 世纪 80 年代, 关于孤独症的研究进入全新阶段。人们开始抛弃所谓“父母抚养方式不当”的病因假说, 从生物学领域探索孤独症的病因, 并在临床症状的识别和临床诊断方面将孤独症与精神分裂症彻底分开。Kolvin 的研究表明, 孤独症同成年精神病性障碍, 尤其是成年精神分裂症没有关系。1980 年出版的《DSM-III》首次将童年孤独症视为一种广泛性发育障碍。之后, 随着对孤独症研究的深入, 逐步认识到孤独症是一种在一定遗传因素作用下, 受多种环境因子刺激导致的弥漫性中枢神经系统发育障碍性疾病。在此认识的基础上, 开展了从分子遗传到神经免疫、功能影像、神经解剖和神经化学等多方面的研究, 人们试图从这些研究中找到孤独症的致病原因。但直至今日, 仍没有任何一种假说能从根本上完美地解释孤独症的病因。

孤独症发生的危险因素 虽然孤独症的病因还不完全清楚, 但目前的研究表明, 某些危险因素可能同孤独症的发病相关。引起孤独症的危险因素可以归纳为: 遗传、感染与免疫和孕期理化因子刺激。

遗传因素 双生子研究显示, 孤独症在单卵双生子中的共患病率高达 61%~90%, 而异卵双生子则未见明显的共患病情况^[5]。在兄弟姊妹之间的再患病率, 估计在 4.5% 左右^[6]。这些现象提示孤独症存在遗传倾向性。

研究显示, 某些染色体异常可能会导致孤独症的发生。

ΔCorresponding author E-mail: ywpeng@fudan.edu.cn

目前已知的染色体有 7q、22q13、2q37、18q、Xp;某些性染色体异常也会出现孤独症的表现,如 47,XYX 以及 45,X/46,XY 嵌合体等^[7,8]。较常见的表现出孤独症症状的染色体病有 4 种:脆性 X 染色体综合征、结节性硬化症、15q 双倍体和苯丙酮尿症。

Cook 根据临床发现孤独症患者存在高 5-羟色胺(5-HT)血症的情况,对 5-HT 系统的基因进行了研究,发现 5-HT₂受体和 5-HT 转运体(5-HTT)基因在孤独症患者中存在连锁不平衡^[9]。

每年均有新的关于孤独症候选基因的报道。近年来新报道的孤独症候选基因有 clock、PRKCB1、CNTN4、CNTCAP2、immune gene、STK39、MAOA、CSMD3、DRD1、neurexin1、SLC25A12、JARID1C、Pax6^[10-23]。2007 年,北京大学精神卫生研究所报道,在汉族孤独症患者中,NRP2 基因存在遗传多态性^[24]。

繁多的候选基因提示了孤独症是一种多基因遗传病,即孤独症可能是在一定的遗传倾向性下,由环境致病因子诱发的疾病。

感染与免疫因素 早在 20 世纪 70 年代末就有研究发现,孕妇患病毒感染后,其子代患孤独症的机率增大。后来数个研究均提示,孕期感染与孤独症发生可能有一定的关系。目前已知的相关病原体有:风疹病毒、巨细胞病毒、水痘——带状疱疹病毒、单纯疱疹病毒、梅毒螺旋体和弓形虫等^[25]。目前推测,这些病原体产生的抗体,由胎盘进入胎儿体内,与胎儿正在发育的神经系统发生交叉免疫反应,干扰了神经系统的正常发育,从而导致了孤独症的发生。

孕期理化因子刺激 受孕早期孕妇若有反应停和丙戊酸盐类抗癫痫类药物的用药史以及酗酒等,可致子代患孤独症的机率增加^[26-30]。根据这些研究,对怀孕 12.5 d 的大鼠一次性高剂量腹腔注射丙戊酸钠,其子代鼠表现出类似孤独症的行为学表现^[31]。还有研究发现,孕期大鼠暴露于反复冷冻刺激中,也会增加子代患孤独症的机率;对孕鼠进行反复冷冻刺激,其子代也表现出孤独症的行为学特征。

我国孤独症患儿的现状 我国对孤独症的研究起步较晚。1982 年,南京陶国泰教授首次报告了 4 例孤独症患者。在《中国精神疾病分类诊断标准》第 2 版(CCMD-2)中开始出现“儿童孤独症”的诊断,但是归在“儿童精神病”的名录下。在 1995 年的《CCMD-2-R》中,开始将其归为广泛发育障碍性疾病。其后的《CCMD-3》沿用了这一分类,并在诊断标准上与《DSM-IV》和《ICD-10》靠拢。

目前,我国尚无全国规模的关于孤独症的流行病学调查,各地局部调查的结果差别较大。福建省 1996 年流行病学调查,报告孤独症的患病率为 2.8/万^[32];天津市 2004 年流行病学调查,报告患病率为 10/万^[33]。保守推算,目前我国至少有 100 万孤独症患者。目前国内对孤独症的研究,主要集中在遗传和康复干预等方面。对孤独症患儿的治疗,主要是行为训练和特殊教育。对于有明显冲动和自伤自残的患儿,也采用抗精神病药物治疗。有人采用针灸治疗孤独症,但其临床疗效有待证实。

目前,我国虽有大量关于孤独症的临床病例报道,而且在全国各地也相继建立了很多孤独症患者康复训练学校,但

总体上,人们对孤独症的了解还很有限,对孤独症的研究尤其是基础研究还非常薄弱。

孤独症患者脑的变化 虽然孤独症是一种广泛性发育障碍性疾病,然而起初人们并不认为患者脑部有生物学改变,因此对其研究多局限于心理学方面。后来发现,孤独症患者脑形态与同龄正常儿童存在明显差异。随着神经影像技术的发展,特别是正电子发射断层显像(PET)、高场强核磁共振以及功能成像核磁共振(fMRI)等技术的应用,对脑的研究进入结构与功能相结合的新阶段,大大推动了对孤独症患者脑的研究。

孤独症患者脑的影像学改变 Bailey 等^[34]对孤独症患者进行常规 MRI 检查,明确肯定了脑容积的增大,而且确定主要是皮层、海马、杏仁体和小脑的增大。随着磁共振波谱分析(MRS)技术的发展和运用,对活体组织代谢物成分和含量的检测得以实现,Hardan 等^[35]应用此技术观察到 18 名男性孤独症患者左侧丘脑 N-甲基天冬氨酸(NAA)代谢水平下降,而 NAA 代谢水平被认为是神经元数量和活性的标志。以同样技术,Page 等^[36]还观察到孤独症患者海马和杏仁体区域谷氨酸/谷氨酰胺以及肌醇/磷脂酰肌醇代谢水平的升高。fMRI 是反映脑的结构和功能状态的重要手段,Allen 等^[37]运用该技术对孤独症患者小脑认知和运动功能的研究发现,患儿小脑运动区明显活跃,而注意力功能区活跃度明显降低。Takeuchi 等^[38]在孤独症患者接受语言任务的研究中发现,fMRI 示患儿右侧额叶较正常对照更为活跃,提示孤独症患者右侧大脑半球在语言功能上占优势。Ogai 等^[39]对孤独症患者面部表情识别的 fMRI 研究发现,其皮层-边缘系统神经通路异常,提示孤独症患者对识别面部表情有困难。

单光子发射断层显像(SPECT)利用同位素标记的低分子量脑显像剂可以自由通过血脑屏障的特性来检测脑的变化。因为脑内同位素的分布依赖于血流灌注和脑细胞功能,故所获得的脑影像既能反映局部脑血流量,又能反映局部神经细胞的功能。1995 年,Zilbovicius 等^[40]在对孤独症患者额叶发育延迟的追踪研究中,观察到 3~4 岁患儿存在暂时性额叶灌注降低,而到 6~7 岁时其额叶灌注恢复正常,提示孤独症患者额叶发育延迟。Hashimoto 等^[41]在对孤独症患者功能缺陷进行的研究中发现,患儿的额叶与顶叶血流灌注量降低,左侧低于右侧;而额叶和枕叶血流灌注降低,则为右侧低于左侧。利用同位素标记脑神经受体配体进行 PET 评价脑内受体的变化,发现孤独症脑存在 5-HT 及多巴胺传递途径受阻^[42],提示两者的受体水平下降。

然而,脑影像学检查虽发现一些孤独症患者脑内存在异常,但由于这类研究的样本量小,结果有特异性的不高,因此还不能作为临床诊断的依据。

孤独症患者脑细胞水平的变化 20 世纪 90 年代末,一些学者观察到孤独症患儿的头围及脑重量增加,影像学的研究同样显示孤独症患儿的脑容积增大。对孤独症患者脑的解剖学研究证实,孤独症患者的整脑,尤其是边缘系统、小脑和脑干均有改变^[34,43-44]。

Bauman 等^[45,46]曾对 6 例孤独症患者尸体作连续脑组织切片,结果观察到海马、海马旁回和杏仁体的细胞密度增大,而细胞的体积却缩小;同时还观察到,这 6 例孤独症患者小脑

的浦肯野细胞数目减少。Bailey等^[47]1998年报道的6例孤独症尸检中,有5例的小脑浦肯野细胞数目明显减少。Bauman等^[45,46]研究还发现,部分儿童患者(9~12岁)下橄榄核的神经元体积增大,而在成年患者(大于22岁)下橄榄核处神经元体积小而灰暗,但数目无明显变化;同时还观察到,患者下橄榄核区域的神经元多聚集在核团的边界处。

孤独症患者脑在分子及基因水平的变化 应用连锁分析、相关性分析以及双生子研究等分子遗传学分析方法,能确定疾病的候选基因,进而找到致病基因位点。随着人类全基因组测序的完成,进行全基因组扫描也能很好地找到疾病的致病基因位点。资料^[48-50]显示,孤独症的遗传因素极为明显,全基因组扫描发现了数十个孤独症的候选基因位点、可能的易感基因和染色体异常涉及到信号转导通路、神经元增殖和分化以及神经元突触的形成与联系等。

5-HT及其受体是一种重要的神经递质系统。5-HT通过其受体调节中枢神经系统的情绪、认知、学习和记忆等功能活动。研究表明,孤独症、精神分裂症及抑郁症等一系列精神障碍,与5-HT神经递质系统的异常有关。约有1/3孤独症患者及其一级亲属中,全血或血小板5-HT水平升高,提示高5-HT可能是孤独症的一个生化易感性标记^[51]。5-HTT存在于5-HT能神经突触前膜,是一类5-HT高亲和力的转运蛋白,具有调节和运输5-HT的功能。5-HTT基因及5-HTR基因是5-HT递质系统的两类重要的基因。5-HTT基因位于17q11.1q12,含有15个外显子,长34 kb,它是孤独症的一个候选基因,有4种多态性^[51]。5-HTR基因有多个成员,其中5-HTR2A基因定位于染色体13q14-21区域,由3个外显子和2个内含子组成,编码一个471个氨基酸组成的G蛋白偶联受体。研究推测,5-HTR2A有6种多态性,孤独症易感性可能与脑中5-HTR2A的表达水平和功能异常有关^[52]。

谷氨酸(Glu)是中枢神经系统主要的兴奋性神经递质。Glu递质系统直接参与认知活动即学习记忆。中枢神经系统长时程增强(LTP)的诱导与Glu受体尤其是NMDA型及APMP型受体的功能密切相关,而海马的LTP被认为是学习和记忆的神经基础。Carlsson基于Glu激动剂在健康人体中产生的效应类同于孤独症患者某些症状的特点,提出孤独症可能是一种高Glu疾病。高Glu动物模型也显示了与孤独症相似的缺陷,如行为异常和重复刻板运动等^[53]。在Glu递质系统的相关基因中,Glu受体6(GluR6)基因被认为是多种精神性疾病易感的候选基因,它在海马和杏仁体区高度表达,其产物是一种离子通道型受体,涉及情绪、认知及记忆等多项功能。GluR6基因定位于6q21,长670 kb,含16个外显子和14个内含子,其核酸水平的改变可导致蛋白表达水平的变化,从而增加了孤独症的易感性^[54]。

γ -氨基丁酸(GABA)作为一种氨基酸类神经递质,是中枢神经系统中重要的抑制性神经递质。现在很多学者认为,孤独症是发育过程中兴奋性与抑制性神经递质表达失衡和兴奋性与抑制性突触失衡所致^[55]。正常水平的抑制对于皮层的发育是必须的,而抑制水平的不足,除了癫痫发作的风险增高外,还会造成认知过程和运动控制的缺陷。现在发现,孤独症患者合成GABA的谷氨酸脱羧酶(GAD)水平下

降;相反,其谷氨酸能神经递质水平却升高^[53]。在GABA递质系统相关基因中,GAD基因及GABA受体的B3亚单位(GABRB3)基因与孤独症易感有关。GABRB3基因定位于15q11-13。研究显示,GABRB3基因的一个115CA-2标记存在连锁不平衡,认为115CA-2与孤独症相关联。

此外,目前研究筛选到的孤独症可能候选基因还有Wnt2(wingless-type MMTV integration site family member 2)基因、RAY1/ST7、REELIN、FOXP2基因以及TP32区域的PEG1/MEST、COPG2、CPA1和CPA5基因,位于2号染色体上的PAX3基因,8号染色体上的MMP16基因,15号染色体上的UBE3A和ATP10C基因等。但因为样本量小,有的基因重复性有限,只能被列入可能与孤独症有关的候选基因之列,是否是孤独症的致病基因,需作进一步研究^[56]。

孤独症动物模型的研究

孤独症的动物模型 人胚发育的20~24 d是神经管关闭和第1批神经元发育的时间,是孤独症形成的关键时间窗。流行病学研究发现,在这个关键时间窗内(怀孕的前3个月),有抗癫痫药丙戊酸钠盐(VPA)或反应停(THAL)用药史的产妇所生孩子孤独症的发病率明显升高^[57]。后来发现,酒精、风疹病毒疫苗(含汞)和反复冷冻刺激(repeated cold stress,RCS)等也是导致孤独症的重要因素。受此启示,用这两种化学物质处理受孕9~12.5 d的动物,果然发现其子代出现很多与孤独症病人相似的形态与功能异常^[58-60],这使得孤独症实验动物模型成为可能。

经反复实验,人们确认THAL主要作用于灵长类动物,而VPA则对啮齿类动物作用明显。Tazumi等^[59]研究发现对孕鼠反复冷冻刺激后产的仔鼠也有类似于孤独症的症状。大鼠怀孕12.5 d被认为是处于在这个关键时间窗内,给此期的大鼠腹腔注射VPA或以RCS处理孕鼠,是建立孤独症动物模型较可靠的方法。研究表明,2种孤独症动物模型与从孤独症病人取得的解剖学、病理学、病因学和行为学等方面的数据有明显的相似性,现已广泛用于孤独症的实验研究。而病毒感染诱导的孤独症模型,虽然行为上和解剖结构上与孤独症相似^[61],但其意义需要进一步研究。需要指出是,与其它各种动物模型一样,因生物基因的特殊性,用动物模型模拟人类孤独症疾病病理同样具有局限性。

为探讨孤独症的神经病理学变化及其分子病因,近年来,我们课题组开展了对孤独症的研究,我们用上述方法建立了动物模型,检测了模型鼠脑内多种神经化学物质的变化。

孤独症模型鼠的发育及行为特点 我组采用Wistar大鼠,在其受孕12.5 d时,腹腔注射VPA获得子代孤独症动物模型。检测了模型动物的外观、体重、睁眼时间、游泳平衡能力和对麻醉药物耐受性等生理指标。孤独症模型组大鼠与对照组相比,结果显示:①体重轻;②睁眼时间推迟;③游泳平衡力差;④麻醉药耐受性低;⑤尾部出现卷曲畸形。这些表现与人类孤独症的某些特征极为相似,表明用VPA注射法较成功地建立了接近人类孤独症的动物模型^[62]。

孤独症模型鼠皮质内锥体神经元的变化 Golgi染色显示:VPA孤独症模型大鼠各脑区锥体神经元较对照组出现

普遍的形态学改变。主要表现为神经元胞体变小,形态不规则;神经元及其纤维排布紊乱;神经元轴突普遍较对照组短,树突紊乱无序。如,前额叶皮层锥体神经元密度增加,突起紊乱,顶树突缩短。这些变化有可能导致皮层的体积增加、神经元之间形成错误联结,脑区间神经回路异常,进而不可避免地造成兴奋与抑制失衡的神经元功能障碍^[63]。

孤独症模型鼠脑内小清蛋白(PV)阳性神经元的变化 用免疫组化方法,观察了成年(12周)模型大鼠脑内情绪与认知相关脑区(杏仁体、前额叶皮层和海马)内的PV阳性神经元的表达情况,并与正常对照组进行比较。结果显示:孤独症模型鼠杏仁体、前额叶皮层和海马区内的PV免疫反应阳性神经元的胞体形态、大小、突起的长度和密度等与正常对照组相比,都发生了不同程度的变化。前额叶皮层与杏仁体内PV阳性神经元的变化特点相似,可能与两者的构造特点相似有关;海马内的变化少有不同,可能与其功能有关。这些结果提示:PV中间神经元在孤独症的发病过程中发挥了重要的作用。由于PV神经元属抑制性神经元,它们的改变可能削弱了对孤独症相关的神经环路中锥体神经元的抑制作用^[64]。

根据孤独症发病特点及PV的表达特点,分别取发育过程中不同时间点的孤独症模型鼠的杏仁体区、前额叶皮层区和海马区,用RT-PCR法观察了VPA孤独症模型鼠和正常鼠发育过程中情绪与认知相关脑区内PV mRNA的表达。结果显示:正常大鼠在出生至第1周末,各个脑区内mRNA水平的PV表达量很少,第2周出现PV表达量的显著增加,这种增加持续到第3周末,但是第4周又出现PV表达量的急剧减少,4周之后海马区的PV表达量将维持在较低的水平,而杏仁体和前额叶皮层的PV表达量则缓慢恢复到3周时的高水平。孤独症模型鼠不同脑区各个时间段的PV表达水平均较正常对照组低,尤其见于第2周到第4周,而这段时间正是突触形成和功能成熟的关键时期,大约有90%的突触在这段时间发育成熟。所以,我们认为,孤独症模型鼠发育过程中情绪与认知相关脑区内PV的表达变化可能影响突触的正常发育与功能成熟,这也可能是导致孤独症发病的原因之一。

孤独症模型鼠脑内BDNF的变化 通过免疫组织化学方法和图像分析技术,观察了不同年龄的孤独症模型鼠大脑皮层中BDNF免疫阳性神经元;进而,通过Western blot方法,检测了孤独症模型鼠大脑皮层BDNF蛋白表达。免疫组化结果显示:孤独症模型鼠大脑皮层内BDNF阳性神经元数目在成年前的各年龄段均比对照组减少,而成年后则比对照组增多。Western blot结果与免疫组化的结果相符。这些结果提示:BDNF可能参与了孤独症发病过程中的病理变化,BDNF在发育期的低水平表达可能延迟了孤独症患者大脑的发育^[62]。

取新生孤独症模型鼠和正常Wistar大鼠大脑皮层做体外神经元培养,用免疫荧光方法比较观察了模型组与对照组大脑皮层神经元的形态以及BDNF的表达。结果显示,对照组和模型组在神经元形态上无明显差异;用BDNF免疫荧光标记后,可见孤独症模型组BDNF免疫阳性神经元比对照组少;对照组BDNF免疫阳性物分布在神经元的胞质、胞核和

突起内,而模型组仅分布在胞核和胞质内。这些体外实验结果与上述体内实验结果相似。

信号蛋白 β -catenin和GSK-3 β 的表达变化 Wnt信号通路是与神经发育相关的重要通路。我们用Western blot方法检测了孤独症模型鼠前额叶皮层、海马和小脑中Wnt信号通路中信号蛋白分子 β -catenin和GSK-3 β 在发育过程中的表达变化^[65]。结果显示:出生后1周的大鼠前额叶皮层中, β -catenin的表达量模型组比对照组高,差异有统计学意义;在海马和小脑,模型组和对对照组之间的差异没有统计学意义;至出生后第2、3、4周和第90天时,模型组 β -catenin在上述各脑区中的表达均比对照组高,随年龄增长,差异趋于显著。出生后1周,模型组GSK-3 β 在前额叶皮层和海马的表达比对照组低,差异有统计学意义;而其在小脑的表达,两组差异无统计学意义;出生后第2、3、4周和90天时,模型组GSK-3 β 在上述各脑区的表达均比对照组低,且随年龄增长,差异趋于明显。根据这些信号蛋白分子在Wnt中的作用进行分析,结果提示,孤独症模型鼠脑内Wnt信号通路传导亢进,而亢进的结果可能正是导致孤独症脑内神经元发育异常的主要原因之一。所以,Wnt信号通路亢进在孤独症的发病中起重要作用^[63]。

为进一步从形态学上证明前述结果,我们选择性地对部分脑区进行了免疫组织化学染色观察。对出生后1~4周和90d模型鼠脑内的GSK-3 β 进行免疫组织化学染色,结果显示:GSK-3 β 主要在小脑的浦肯野细胞胞质中表达。在出生后1周,模型鼠的GSK-3 β 免疫阳性神经元与对照组相比,没有明显变化;至第2、3周时,模型组的GSK-3 β 免疫阳性神经元数量减少;而在第4周和90天时,模型组的GSK-3 β 免疫阳性神经元的减少更为明显,且部分神经元染色较淡,说明GSK-3 β 在小脑内的表达明显减少。这种形态变化与上述Western blot的结果相符。由于GSK-3 β 是 β -catenin的主要负性调节因子,能使 β -catenin发生磷酸化,使其进入蛋白酶体被降解,如果GSK-3 β 水平降低,对 β -catenin的降解就会减少,从而引起Wnt信号增强^[63]。

小结与展望

综上所述,作为一种严重影响儿童身心健康的广泛发育障碍性疾病,孤独症正在越来越多地受到人们的关注。然而,尽管有各学科专家的不懈努力,孤独症的发病原因仍不很清楚,因而尚无有效的治疗方法和预防措施,对孤独症的研究之路仍然很长。

未来研究的重点将仍然是孤独症的分子病因,包括基因和环境两方面的因素。其中,对基因的研究,主要有与神经元迁移相关的基因,如参与神经元发育和迁移的RELN基因;与神经递质相关的基因,如与GABA和5-HT等神经递质相关的基因;与突触形成相关的蛋白基因,如Neurexins和neuroligin等基因;与细胞内通路及信号转导相关蛋白的基因,如PTEN基因、Wnt信号通路及其信号蛋白Dvl-1基因。

预防是降低孤独症出生风险的重要措施。在女性怀孕早期,即胚胎神经管形成和发育期,应避免滥用药物,特别是抗癫痫类药物;避免病毒性感染;避开冷热温差变化较大的环境;以及避免受重大精神刺激和创伤等。

全社会特别是政府部门,有必要从提高国民人口素质的

战略高度,重视对孤独症的研究和治疗,有必要对孤独症研究和防治进行专项投资。在美国,与孤独症相关的年度开支已经达300多亿美元,还在全国范围内建立了孤独症实时情况报告体系。我国还应该建立正规的、专业化的孤独症康复训练学校,培养专业化的孤独症康复和培训的师资队伍,对孤独症患者尽早进行专业化的康复训练。我们相信,经过系统的科学的康复训练和治疗,很多孤独症患儿有望不同程度地走出“孤独”。

致谢:王中平、徐理、陈明军参与本文的组稿工作。

【关键词】 孤独症; 研究; 进展

【中图分类号】 R 749.93 【文献标志码】 A

参 考 文 献

- [1] 沈渔邨. 精神病学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 569-571.
- [2] Kanner L. Autistic disturbances of affective contact[J]. *Nerv Child*, 1943, 2: 217-243.
- [3] Kanner L, Eisenberg L. Early infantile autism[J]. *Psychiatr Res Rep Psychiatr Am Assoc*, 1957, 7: 55-65.
- [4] Lotter V. Factors related to outcome in autistic children[J]. *J Autism Child Schizophr*, 1974, 4(3): 263-277.
- [5] Bailey A, Le Couteur A, Gottesman I, et al. Autism as a strongly genetic disorder: evidence from a British twin study[J]. *Psychol Med*, 1995, 25: 63-77.
- [6] Jorde L, Hassted S, Ritvo E, et al. Complex segregation analysis of autism[J]. *Am J Hum Genet*, 1991, 49: 932-938.
- [7] Sykes NH, Lamb JA. Autism: the quest for the genes[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2007, 9: 1-15.
- [8] Mendelsohn NJ, Schaefer GB. Genetic evaluation of autism[J]. *Semin Pediatr Neurol*, 2008, 15: 27-31.
- [9] Cook EH Jr, Conrchesne R. Evidence of linkage between the serotonin transporter and autistic disorder[J]. *Mol Psychiatry*, 1997, 2(3): 247-250.
- [10] Nicholas B, Rudrasingham V, Nash S, et al. Association of Per1 and Npas2 with autistic disorder: support for the clock genes/social timing hypothesis[J]. *Mol Psychiatry*, 2007, 12(6): 581-592.
- [11] Lintas C, Sacco R, Garbett K, et al. Involvement of the PRKCB1 gene in autistic disorder: significant genetic association and reduced neocortical gene expression[J]. *Mol Psychiatry*, 2009, 14(7): 705-718.
- [12] Roohi J, Montagna C, Tegay DH, et al. Disruption of contactin 4 in three subjects with autism spectrum disorder[J]. *J Med Genet*, 2009, 46(3): 176-182.
- [13] Alarcón M, Abrahams BS, Stone JL, et al. Linkage, association, and gene-expression analyses identify CNTNAP2 as an autism-susceptibility gene[J]. *Am J Hum Genet*, 2008, 82: 150-159.
- [14] Garbett K, Ebert PJ, Mitchell A, et al. Immune transcriptome alterations in the temporal cortex of subjects with autism[J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 30(3): 303-311.
- [15] Ramoz N, Cai G, Reichert JG, et al. An analysis of candidate autism loci on chromosome 2q24-q33: evidence for association to the STK39 gene[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2008, 147B(7): 1152-1158.
- [16] Davis LK, Hazlett HC, Librant AL, et al. Cortical enlargement in autism is associated with a functional VNTR in the monoamine oxidase A gene [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2008, 147B(7): 1145-1151.
- [17] Floris C, Rasmussen S, Boccone L, et al. Two patients with balanced translocations and autistic disorder: CSMD3 as a candidate gene for autism found in their common 8q23 breakpoint area[J]. *Eur J Hum Genet*, 2008, 16(6): 696-704.
- [18] Yrigollen CM, Han SS, Kochetkova A, et al. Genes controlling affiliative behavior as candidate genes for autism[J]. *Biol Psychiatry*, 2008, 63(10): 911-916.
- [19] Hettinger JA, Liu X, Schwartz CE, et al. DRD1 haplotype is associated with risk for autism spectrum disorders in male-only affected sib-pair families [J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2008, 147B(5): 628-636.
- [20] Kim HG, Kishikawa S, Higgins AW, et al. Disruption of neurexin 1 associated with autism spectrum disorder[J]. *Am J Hum Genet*, 2008, 82(1): 199-207.
- [21] Lepagnol-Bestel AM, Maussion G, Boda B, et al. SLC2A12 expression is associated with neurite outgrowth and is upregulated in the prefrontal cortex of autistic subjects[J]. *Mol Psychiatry*, 2008, 13(4): 385-397.
- [22] Adegbola A, Gao H, Sommer S, et al. A novel mutation in JARID1C/SMCX in a patient with autism spectrum disorder (ASD)[J]. *Am J Med Genet*, 2008, 146A(4): 505-511.
- [23] Davis LK, Meyer KJ, Rudd DS, et al. Pax6 3' deletion results in aniridia, autism and mental retardation[J]. *Hum Genet*, 2008, 123(4): 371-378.
- [24] Wu S, Yue W. Association of the neuropilin-2 gene polymorphisms with autism in Chinese han population[J]. *Am J of Med Genetics*, 2007, 144B(4): 492-495.
- [25] 张亚林. 高级精神病学[M]. 长沙: 中南大学出版社, 2006: 643-647.
- [26] Stromland K, Nordin V, Miller MT, et al. Autism in thalidomide embryopathy: a population study[J]. *Dev Med Child Neurol*, 1994, 36(4): 351-356.
- [27] Christianson AL, Chesler N, Kromberg JGR. Fetal valproate syndrome: clinical and neurodevelopmental features in two sibling pairs[J]. *Dev Med Child Neurol*, 1994, 36(4): 357-369.
- [28] Williams PG, Hersh JH. A male with fetal valproate syndrome and autism[J]. *Dev Med Child Neurol*, 1997, 39(9): 632-634.
- [29] Williams G, King J, Cunningham M, et al. Fetal valproate syndrome and autism: additional evidence of an association [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2001, 43(3): 202-206.
- [30] Nanson JL. Autism in fetal alcohol syndrome: a report of six cases[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 1992, 16(3): 558-565.
- [31] Schneider T, Przewlocki R. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2005, 30(1): 80-89.
- [32] 罗维力, 林力. 福建省儿童孤独症流行病学调查[J]. 上海精神

- 医学,2000,12(1):3-5.
- [33] 郭荣.天津市5 000名0~6岁儿童中儿童孤独症的流行病学调查[J].中国临床康复,2004,8(6):1 122-1 123.
- [34] Bailey A, Luthert P, Bolton P, *et al.* Autism and megalencephaly[J]. *Lancet*,1993,341(8 854):1 225-1 226.
- [35] Harden AY,Minshew NJ. An MRI and proton spectroscopy study of the thalamus in children with autism[J]. *Psychiatry Res; neuroimaging*,2008,163(2):97-105.
- [36] Page LA, Daly E, *et al.* *In vivo* 1H-Magnetic resonance spectroscopy study of amygdale-hippocampal and parietal regions in autism[J]. *Am J Psychiatry*,2006,163(12):2 189-2 192.
- [37] Allen G,Courchesne E. Differential effects of developmental cerebellar abnormality on cognitive and motor functions in the cerebellum; an fMRI study of autism[J]. *Am J Psychiatry*, 2003,160(2):262-273.
- [38] Takeuchi M,Harada M,*et al.* Difference of signal change by a language task on autistic patients[J]. *J Med Invest*,2004,51 (1-2):59-62.
- [39] Ogai M,Matsumoto H. fMRI study of recognition of facial expressions in high-functioning autistic patients [J]. *Neuroreport*,2003,14(4):559-563.
- [40] Zilbovicius M,Garreau B. Delayed maturation of the frontal cortex in childhood autism[J]. *Am J Psychiatry*,1995,152 (2):248-252.
- [41] Hashimoto T, Sasaki M. Single-photon emission computed tomography of the brain in autism; effect of the developmental level[J]. *Pediatric Neurol*,2000,23(5):416-420.
- [42] Sugihara G, Ouchi Y. Advances in neuroimaging research on Asperger syndrome[J]. *Nippon Rinsho*,2007,65(3):449-452.
- [43] Steg JP,Rapoport JL. Minor physical anomalies in normal, neurotic, learning disabled, and severely disturbed children [J]. *J Autism Child Schizophr*,1975,5(4):299-307.
- [44] Walker HA. Incidence of minor physical anomaly in autism [J]. *J Autism Child Schizophr*,1977,7(2):165-176.
- [45] Bauman ML. Microscopic neuroanatomic abnormalities in autism[J]. *Pediatrics*,1991,87(5):791-796.
- [46] Bauman ML,Kemper TL. Histoanatomic observations of the brain in early infantile autism[J]. *Neurology*,1985,35(6): 866-874.
- [47] Bailey A,Luthert P,Dean A,*et al.* A clinicopathological study of autism[J]. *Brain*,1998,121(5):889-905.
- [48] Gutknecht L. Full-genome scans with autistic disorder[J]. *Behav Genetics*,2001,31(1):113-123.
- [49] Philippe A. Paris autism research international sibpair study; genome-wide scan for autism susceptibility genes[J]. *Hum Mol Genetics*,1999,8(5):805-812.
- [50] Freitag CM. The genetics of autistic disorders and its clinical relevance; a review of the literature[J]. *Mol Psychiatry*, 2007,12(1):1-22.
- [51] Leboyer M, Philippe A, Bouvard M, *et al.* Whole blood serotonin and plasma beta-endorphin in autistic probands and their first-degree relatives[J]. *Biol Psychiatry*,1999,45(2): 158-163.
- [52] Veenstra-Vander Weele J, Kim SJ, *et al.* Transmission disequilibrium studies of the serotonin 5-HT (2A) receptor gene in autism [J]. *Am J Med Genetics*,2002,114(3): 277-283.
- [53] Fatemi SH, Halt AR, Stary JM, *et al.* Glutamic Acid Decarboxylase 65 and 67 kDa Proteins are reduced in autistic parietal and cerebellar cortices[J]. *Biol Psychiatry*,2002,52 (8):805-810.
- [54] Jamain S,Betancur C, *et al.* Linkage and association of the glutamate receptor 6 gene with autism[J]. *Mol Psychiatry*, 2002,7(3):302-310.
- [55] Rubenstein JLR,Merzenich MM. Model of autism; increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems[J]. *Genes, Brain Behav*,2003,2(5):255-267.
- [56] Lise Gutknecht. Full-genome scans with autistic disorder; a review[J]. *Behav Genetics*,2001,31(1):113-123.
- [57] Rice D, Barone SJ. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system; evidence from humans and animal models[J]. *Environ Health Perspect*,2000,108(S3):511-533.
- [58] Williams G, King J, Cunningham M, *et al.* Fetal valproate syndrome and autism; additional evidence of an association [J]. *Dev Med Child Neurol*,2001,43(3):202-206.
- [59] Tazumi T, Hori E, Uwano T, *et al.* Effects of prenatal maternal stress by repeated cold environment on behavioral and emotional development in the rat offspring [J]. *Behav Brain Res*,2005,162(1):153-160.
- [60] Schneider T, Przewlocki R. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to Valproic Acid; animal model of autism [J]. *Neuropsychopharmacol*,2005,30(1):80-89.
- [61] Raymond GV, Bauman ML, Kemper TL. Hippocampus in autism; a golgi analysis[J]. *Acta Neuropathol*,1996,91(1): 117-119.
- [62] 王月华,李瑞锡,彭裕文. BDNF免疫反应阳性神经元在大鼠孤独症动物模型大脑顶叶感觉皮质中的表达[J]. 神经解剖学杂志,2008,24(3):219-225.
- [63] 陈明军,李瑞锡,彭裕文. Wnt通路信号蛋白 β -catenin和GSK-3 β 在孤独症模型大鼠脑中表达的变化[J]. 神经解剖学杂志,2009,25(4):361-368.
- [64] 王维霞,李瑞锡,彭裕文. PV阳性神经元在孤独症模型大鼠情绪与认知脑区内的表达[J]. 神经解剖学杂志,2008,24(2): 131-140.

(收稿日期:2009-07-20;编辑:沈玲)