

张晓蒙, 马丙祥, 周荣易, 等. 抽动障碍免疫相关动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(1): 107-116.
Zhang XM, Ma BX, Zhou RY, et al. Research progress on immune-related animal models of tic disorders [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(1): 107-116.
Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2022.01.014

抽动障碍免疫相关动物模型研究进展

张晓蒙¹, 马丙祥^{2*}, 周荣易^{2*}, 史文丽², 李华伟²

(1. 河南中医药大学, 郑州 450000; 2. 河南中医药大学第一附属医院, 河南省中西医结合儿童医院, 郑州 450000)

【摘要】 抽动障碍(tic disorders, TD)为儿童常见疾病, 发病率不断上升, 其病因及发病机制尚不明确, 随着临床中感染与 TD 症状诱发和加重关系的认识及 TD 免疫炎症相关研究的进展, 免疫异常也逐渐被认为是其重要致病因素及病理过程之一, 建立 TD 免疫学动物模型是其免疫相关实验研究的基础, 因此本文通过查阅国内外相关文献, 系统介绍了国际上 TD 免疫相关动物模型的研究概况, 并依据表面效度、结构效度和预测效度的国际动物模型评价标准对模型优劣进行比较分析, 以期国内 TD 的相关实验研究提供参考。

【关键词】 抽动障碍; 免疫; 动物模型; 链球菌; 抗体

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2022) 01-0107-10

Research progress on immune-related animal models of tic disorders

ZHANG Xiaomeng¹, MA Bingxiang^{2*}, ZHOU Rongyi^{2*}, SHI Wenli², LI Huawei²

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China. 2. the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Henan Provincial Children's Hospital of Integrative Medicine, Zhengzhou 450000)
Corresponding author: MA Bingxiang. E-mail: mbx1963@163.com; ZHOU Rongyi. E-mail: zhourongyitcm@sina.com

【Abstract】 Tic disorders (TD) are relatively common, with an increasing incidence, in children. The etiology and pathogenesis of TD are still unclear. With increased understanding of the relationship between infection, induction and exacerbation of TD symptoms in clinical practice, as well as research progress on TD-related immune inflammation, immune abnormalities are regarded as one of the important factors involved in the pathological processes of TD. The establishment of immunological TD animal models has provided the basis of immune-related experimental research. Therefore, this study systematically reviews the research status of TD immune-related animal models by consulting relevant domestic and foreign literature, and compares the advantages and disadvantages of models using international evaluation criteria of face validity, construct validity and predictive validity of animal models, to provide reference for domestic TD-related experimental research.

【Keywords】 tic disorders; immune; animal model; Streptococcus; antibody

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

抽动障碍(tic disorders, TD), 又称抽动症, 是一种常发生于儿童期的以肌肉的不自主、突然、快速的收缩和(或)发声为主要表现的神经发育障碍性

疾病, 国内发病率约为 6.1%^[1]。TD 常共患强迫症、注意缺陷多动障碍、情绪障碍、焦虑障碍等其他疾病^[2], 严重影响儿童的生活质量及心理健康, 因

【基金项目】 国家自然科学基金(81904252)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China(81904252).

【作者简介】 张晓蒙(1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 儿童精神神经系统疾病。Email: mxcz1912@163.com

【通信作者】 马丙祥(1963—), 男, 博士, 主任医师, 教授, 研究方向: 儿童精神神经系统疾病。Email: mbx1963@163.com;

周荣易(1990—), 男, 博士, 主治医师, 副教授, 研究方向: 儿童精神神经系统疾病。Email: zhourongyitcm@sina.com。

* 共同通信作者

此加强对本病的研究意义重大。截至目前,TD 的病因及发病机制尚未完全阐明,目前的研究多集中在基于皮质-纹状体-丘脑-皮质(cortico-striato-thalamo-cortical, CSTC)回路的多巴胺(Dopamine, DA)和 5-羟色胺(serotonin, 5-HT)等神经递质失衡并开发出相应的药物,取得一定的疗效,为 TD 的临床控制提供药物选择。但在临床治疗中,越来越多学者发现药物治疗 TD 无法有效控制其症状反复,TD 的复发成为临床难题,而其复发或加重常常会在上呼吸道感染、免疫功能低下等的情况下出现,这引起人们的高度重视。随着 TD 与链球菌感染关系的相关报道^[3]不断增加,TD 存在的自身免疫异常受到广泛关注。国外研究发现 TD 存在一些抗体、免疫细胞、细胞因子、免疫球蛋白等异常及免疫相关的遗传学改变^[4],免疫炎症发病机制成为 TD 病因及发病机理研究的国际前沿热点。

为研究 TD 的免疫炎症机制,国际上大量针对 TD 的免疫相关动物模型应运而生。纵观国内研究,学者多关注于感染、免疫因素与 TD 临床症状的严重程度的关联性研究,对抽动症免疫机制的实验研究涉及较少。动物模型是开展实验研究的基础,作为国际新兴的研究热点,对 TD 免疫相关动物模型的研究有助于深入探索其发病机制,解答临床疑惑,而国内尚未见有关 TD 免疫相关模型的详细报道。为详细了解 TD 免疫模型的国际研究情况,推动国内 TD 免疫发病机制研究的进展,本文系统总结了目前国际上针对 TD 免疫异常的模型研究,详细分析各种免疫模型的优势,以期为国内 TD 临床前实验研究提供模型参考。

1 细菌抗原或病毒模拟物诱导的主动免疫模型

早在 20 世纪 90 年代已有研究表明部分儿童在 A 组链球菌(group A Streptococcus, GAS)感染后出现急性抽动障碍,并提出了儿童自身免疫性神经精神疾病(pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infection, PANDAS)的概念^[5]。研究显示 TD 患者似乎更容易受到 GAS 感染,并产生较强的体液免疫反应,导致症状加重^[6-7]。GAS 感染可激活机体的自身免疫反应,增加血脑屏障通透性,GAS 诱导的抗体靶向作用于大脑中负责控制运动的神经元,促使抽动症状的出现^[8],且抗 GAS 抗体滴度与 TD 严重程度成正相关^[9],因此产生了用细菌抗原或病毒模拟物来诱导自身抗体生成并发生相应免疫病理改变的主

动免疫模型。

1.1 GAS 感染相关模型

GAS 感染模型为最早建立的 TD 免疫模型,通过将含有 GAS M6 型匀浆的弗氏佐剂对雌性 SJL/J 小鼠皮下注射建立 A 组乙型溶血性链球菌(group A β -hemolytic streptococcal, GABHS)免疫的小鼠模型,这些小鼠在野外试验和洞板试验中有更高频率的直立行为。经检测发现一些 GABHS 免疫小鼠对深部小脑核(deep cerebellar nuclei, DCN)、苍白球和丘脑这些与感觉运动和情绪处理相关脑区域具有免疫反应性,并且在 DCN 中有免疫球蛋白 IgG 的沉积^[10](见表 1)。与 GAS M6 诱导的小鼠模型相似,使用含 GAS M18 菌株成分的弗氏佐剂对雄性幼年大鼠进行免疫,并腹腔注射加热灭活的百日咳杆菌作为附加佐剂建立 GAS M18 诱导的大鼠模型,大鼠的运动症状及强迫行为增加,并产生抗微管蛋白抗体,使钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II 信号增强,在大鼠的纹状体、丘脑和额叶皮层中有抗体沉积,且伴随着皮层和基底神经节中多巴胺和谷氨酸等神经递质水平的变化,而治疗 TD 的药物氟哌啶醇、帕罗西汀可使异常行为缓解^[11](见表 1)。

GAS 感染诱发自身免疫抗体激活导致了大鼠出现 TD 样行为异常,成为 TD 免疫发病机制的重要佐证,但在建模过程中如何破坏了血脑屏障的完整性使抗体通过血脑屏障并作用于相关脑区域仍缺乏相关的研究证据。对于该模型未来的研究可关注影响血脑屏障完整性的因素、抗体进入大脑的途径及如何发挥生物学作用。

1.2 其他微生物感染模型

GAS 诱导的 TD 模型的建立为感染诱发机体免疫反应动物模型的设计提供了思路,多种微生物感染 TD 模型被制备出来,它们极大推动了 TD 免疫机制研究进程。有学者通过注射病毒模拟物 poly(I:C)来刺激怀孕小鼠建立母体免疫模型,其后代在大理石掩埋实验表现出类似于 TD 的重复、刻板行为及理毛行为增加^[12],且后续研究指出产前免疫激活导致了其后代出生后持续的免疫改变,主要表现为调节性(Treg)T 细胞缺陷和 CD4(+)T 细胞反应升高,以及脾 Gr-1(+)细胞水平升高,CD4(+)T 细胞反应升高导致白细胞介素 IL-17、IL-6 增加,这些改变可进一步引起异常行为的发展或持续^[13](见表 1),且当消除 IL-6 后其后代行为异常也减少,因此可能 IL-6 发挥了主要作

用^[14]。研究显示,早期各种内源性或外源性因素引起的免疫激活可能在生命早期阶段启动神经网络的发展和突触的形成,并在生命后期形成免疫和内分泌组织与神经系统的交互作用^[15]。因此,免疫模型具有一定的子代遗传特性。

2 血清抗体直接输注诱导的被动免疫模型

血清抗体注射为 TD 免疫模型的另一种造模

方法,该模型是将 TD 患者的血清抗体直接输注到大鼠或小鼠体内,作用于其脑组织而引起模型鼠脑功能的改变导致类似于抽动行为的发生。该方法制备的动物模型生物学改变与细菌抗原诱导的主动免疫模型相似,研究显示,血清抗体注射与脑中的分子靶向补体 C4 蛋白和 α -2-巨球蛋白发生交叉反应并产生免疫沉淀是该模型成功的基础^[10]。

表 1 细菌抗原或病毒模拟物诱导的主动免疫模型

Table 1 Active immune model induced by bacterial antigens or virus mimics

暴露物 Exposure	造模方法 Modeling method	对照组 暴露物 Control group	行为表现 (表面效度) Behaviors (Face validity)	病理改变 (结构效度) Pathological changes (Construct validity)	预测效度 Predictive validity	参考文献 References
GAS M6 型 抗原 GAS M6 antigen	对 6 周龄雌性 SJL/J 小鼠皮下注射含有 GAS M6 型匀浆的 FA,并每隔 4 ~ 6 周进行 1 次强化,共 3 次强化 6-week-old female SJL/J mice were subcutaneously injected with FA containing GAS M6 homogenate, and boosted every 4 ~ 6 weeks for a total of three boosts	弗氏佐剂 Freund's adjuvant	在野外和洞板试验中直立行为 ↑ Rearing in open-field and hole-board tests ↑	DCN、苍白球和丘脑有 IgG 沉积,以 DCN 为著,且血清抗 DCN 抗体阳性者的抗体沉积更高 DCN, globus pallidus and thalamus have IgG deposits, mainly DCN, and those with positive serum anti-DCN antibodies have higher antibody deposits	/	[10]
GAS M18 型抗原 GAS M18 antigen	对 5 周龄雄性 Lewis 大鼠皮下注射含 GAS M18 菌株成分的 FA,并腹腔注射加热灭活的百日咳杆菌作为附加佐剂,并在 14 d 和 28 d 后进行强化 Five-week-old male Lewis rats were subcutaneously injected with FA containing GAS M18 strain components, and heat-inactivated bacillus pertussis was injected intraperitoneally as an additional adjuvant, and they were strengthened after 14 days and 28 days.	PBS	食物操纵和平衡木行走障碍 及强迫行为(自发的理毛行为) Impaired food manipulation and beam walking, compulsive behavior (induced-grooming)	纹状体、丘脑和额叶皮质中 IgG 沉积,钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II 信号,DA,谷氨酸,GAS 大鼠血清与人多巴胺 D1 和 D2 受体膜抗原的反应 IgG deposition in striatum, thalamus and frontal cortex, calcium/calmodulin-dependent protein kinase II signal, DA, Glutamate, Reaction of GAS rat serum with human dopamine D1 and D2 receptor membrane antigens	DA D2 受体拮抗剂氟哌啶醇选择性 5-HT 再摄取抑制剂帕罗西汀可使异常运动减少 The DA D2 receptor antagonist haloperidol and the selective 5-HT reuptake inhibitor paroxetine can reduce abnormal movements	[11]
病毒模拟物 poly (I:C) Virus mimic poly (I:C)	在 C57BL/6J 小鼠怀孕第 10.5、12.5 和 14.5 d 时注射病毒模拟物 poly (I:C) C57BL/6J mice were injected with virus mimic poly (I:C) on the 10.5, 12.5 and 14.5 days of pregnancy	生理盐水 Saline	其后代在大理石掩埋和自我理毛测试中的重复刻板行为 The repetitive stereotypies of the offspring in the marble burying and self-grooming test	Treg 细胞缺陷,CD4(+) T 细胞反应 ↑,脾 Gr-1(+) 细胞水平,CD4(+) T 细胞反应。IL-17、IL-6 Treg cell defect, CD4(+) T cell response, spleen Gr-1(+) cell level, CD4(+) T cell response, IL-17, IL-6	/	[12-13]

注:PBS:磷酸缓冲盐溶液;FA:弗氏佐剂。

Note. PBS. Phosphate buffer saline. FA. Freund's adjuvant.

2.1 中枢(纹状体)注射血清抗体模型

研究显示 TD 患儿存在抗纹状体神经元抗体,抗体与纹状体神经元结合可引起纹状体功能障碍从而诱导行为异常^[16]。实验研究显示,TD 患者血清中的抗体可激活大鼠脑组织中超极化激活的环核苷酸通道 4 (hyperpolarisation-activated cyclic nucleotide channel 4,HCN4),调控 CSTC 回路的神经信号转导平衡为该模型发病的基础^[17]。将含有高水平的抗神经元或抗核抗体(anti-nuclear antibody,ANAb)的 TD 患者血清注射到大鼠的腹侧纹状体,发现大鼠的口腔刻板行为增加^[18],国内亦有与之类似的研究可复制 TD 的抽动症状^[19]。且纹状体输注 TD 血清后,SD 大鼠表现出更多的刻板行为,这

些行为与输入抗 HCN4 抗体的量相关^[17](见表 2)。

2.2 外周注射血清抗体模型

外周注射血清抗体模型造模思路及方法与中枢注射模型类似,且具有一定的验证效应。研究显示,通过向雄性成年 BALB/c 小鼠皮下注射抗 GAS IgM 单克隆抗体,小鼠嗅探行为、头部摆动和理毛行为增加,诱发受体小鼠出现抽动行为,这与抗 GAS IgM 抗体调控皮质-纹状体投射相关的区域引起了 Fos 样免疫反应有关^[20],另外直接输注被含 GABHS 匀浆免疫过的小鼠血清也可产生与注射 TD 患者血清相似的效应,而清除供体血清中 IgG 则此行为改变消失^[21],这些有力验证了 TD 自身免疫发病机制的存在(见表 2)。

表 2 血清抗体直接输注诱导的被动免疫模型

Table 2 Passive immune model induced by direct infusion of serum antibodies						
暴露物 Exposure	造模方法 Modeling method	对照组 暴露物 Control group	行为表现(表面效度) Behaviors (Face validity)	病理改变 (结构效度) Pathological changes (Construct validity)	预测效度 Predictive validity	参考 文献 References
TD 患者的血清或 γ-免疫球蛋白 (IgG) Serum or γ- immunoglobulin (IgG) of patients with TD	以 0.5 mL/h 的速率向雄 性 Fischer344 大鼠纹状体 内微量泵入 TD 患者的血 清或从血清分离出的 γ-免 疫球蛋白(IgG) 72 h Microinjection of TD patient's serum or γ- immunoglobulin (IgG) isolated from serum into the striatum of male Fischer344 rats at a rate of 0.5 mL/h for 72 h	健康儿童的 血清 Serum for healthy children	大鼠舔食↑、前爪摇动↑ (第 1~3 天),无端发声 的情节↑ Licking and forepaw shaking (Day 1~3), episodes of unprovoked audible vocalizations	纹状体 IgG 沉积 Striatum IgG deposition	/	[16]
含有高浓度的抗 神经元或 ANAb 的 TD 患者的 血清 Serum of TD patients with high concentrations of anti-neuronal or anti- nuclear antibodies	将含有高浓度的抗神经元或 ANAb 的 TD 患者血清双 侧注入雄性 SD 大鼠的腹 侧纹状体内 Inject the serum of TD patients with high concentrations of anti- neuronal or anti-nuclear antibodies into the ventrolateral striatum of male SD rats bilaterally	TD 患者及正常 受试者血清(抗 体水平较低者) Serum of TD patients and normal subjects (those with lower antibody levels)	口腔刻板行为(吃木屑、自 咬、啃食动作、与理毛无关 的舔舐),生殖器理毛行 为,且与自身抗体的水平 呈正相关 Oral stereotypies (eating sawdust, self-biting, nibbling, licking that has nothing to do with grooming), genital grooming and these are positively correlated with the level of autoantibodies	/	/	[18]
含有高浓度 ANAb 的 TD 患者 的血清 Serum of TD patients with high concentrations of ANAb	将含有高浓度 ANAb (24.47 μg/mL) 的 TD 患 者的血清经微量注射泵注 射到雄性 SD 大鼠的纹状 体内 Inject the serum of TD patients with high concentrations of ANAb (24.47 μg/mL) into the striatum of male SD rats via a microinjection pump	低浓度抗体的 TD 患者血清 或 PBS TD patient serum with low concentration of antibody or PBS	不自主咀嚼↑、反复无目 地啃食↑、前爪从面部到 嘴的推爪样动作↑ Chewing involuntarily, repeated gnawing without eyes, pushing the front paw from the face to the mouth	/	/	[19]

续表 2

暴露物 Exposure	造模方法 Modeling method	对照组 暴露物 Control group	行为表现(表面效度) Behaviors (Face validity)	病理改变 (结构效度) Pathological changes (Construct validity)	预测效度 Predictive validity	参考 文献 References
含抗 HCN4 抗体的 TD 患者血清或纯化的抗 HCN4 抗体 TD patient serum with anti-HCN4 antibodies or purified anti-HCN4 antibodies	向 8 周龄的雄性 SD 大鼠纹状体微泵注射含抗 HCN4 抗体的 TD 患者血清或纯化的 HCN4 抗体 Microinjection of TD patient serum containing anti-HCN4 antibody or purified HCN4 antibody into the striatum of 8-week-old male SD rats	注意缺陷多动障碍患者或健康对照者的血清 Serum from patients with attention deficit hyperactivity disorder or healthy controls	刻板行为,理毛行为,过度活跃 Stereotypies, grooming, hyperactivity	TD 患者血清中抗 HCN4 抗体较高,可与大鼠脑组织(皮层和纹状体、丘脑)中的 120×10^3 蛋白(HCN4)发生反应 The anti-HCN4 antibody in the serum of TD patients is relatively high, which can react with the 120×10^3 protein (HCN4) in the rat brain tissue (cortex and striatum, thalamus).	/	[17]
抗 GAS IgM 单克隆抗体 Anti-GAS IgM monoclonal antibody	向 2 ~ 3 个月的雄性 BALB/c 小鼠皮下注射抗 GAS IgM 单克隆抗体 Subcutaneous injection of anti-GAS IgM monoclonal antibody into male BALB/c mice aged 2 ~ 3 months	抗 GAS IgG 或抗 KLH IgM Anti-GAS IgG or anti-KLH IgM	抗 GAS IgM 组摇头、嗅探行为,剧烈理毛行为;抗 GAS IgG 组无明显刻板行为;抗 KLH IgM 组活动 Head bobbing, sniffing, and intense grooming. No obvious stereotypies behavior in anti-GAS IgG group. Anti-KLH IgM group activities	抗 GAS IgM 在与涉及运动控制的皮质纹状体投射相关区域(包括尾状核、伏隔核和运动皮层的子区域)沉积,并刺激了 Fos 样免疫反应 Anti-GAS IgM is deposited in the cortical striatal projections involved in motor control (including the caudate nucleus, nucleus accumbens, and subregions of the motor cortex) and stimulates Fos-like immune responses	/	[20]
被 GABHS 匀浆免疫过的小鼠的血清 Serum of mice immunized with GABHS homogenate	将被含有 GABHS 匀浆的 PBS 免疫过的 SJL/J 小鼠(供体小鼠)的血清通过尾静脉输注到未成熟的 6 周龄雄性 SJL/J 小鼠(受体小鼠),并每隔 3 周进行 3 次增强 Serum of SJL/J mice (donor mice) immunized with PBS containing GABHS homogenate was infused into immature 6-week-old male SJL/J mice (recipient mice) through the tail vein, and mice were then boosted three times at 3-week intervals	PBS 血清;清除了 IgG 的 GABHS 血清和 PBS 血清 PBS serum. IgG-depleted GAS serum. PBS mouse serum; IgG-depleted PBS serum	直立行为,理毛行为;注入清除了抗体的免疫血清后这些行为消失 Rearing, grooming, these behaviors disappear after injecting immune serum that has eliminated antibodies	海马和脑室周围区域的 IgG 沉积 IgG deposition in the hippocampus and periventricular area	/	[21]

注:KLH:血蓝蛋白;CFA:完全弗氏佐剂。
Note. KLH. Keyhole limpet hemocyanin. CFA. Complete Freund's adjuvant.

3 直接注射免疫因子模型

前瞻性研究表明,TD 患者体内 IL-12 和肿瘤坏死因子 TNF- α 水平较高,且在症状加重期间进一步升高,这表明 TD 症状加重可能与涉及中枢神经系统的细胞因子诱导的炎症过程有关^[22]。研究结果显示,促炎细胞因子可调节多种神经传导,如谷氨

酸能、 γ -氨基丁酸能、多巴胺能和去甲肾上腺素能神经传导,从而引起神经胶质网络的改变和神经精神异常的后果^[23]。因此细胞因子不仅具有免疫调节作用,而且还具有调节神经活动的作用,一些神经精神疾病的细胞因子的异常可能与此有关,已有实验证实通过注射细胞因子或其受体可诱导 TD 免疫相关模型。

3.1 注射 IL-2 和 IL-6 模型

IL-2 是一种外周免疫细胞以及中枢神经系统驻留细胞产生的细胞因子,研究显示,IL-2 可诱导活化 T 细胞的增值并影响 Treg 细胞的存活,在激活自身免疫应答的同时,影响中皮层皮质结构中 DA 的释放。临床研究发现一些 TD 患者存在 Treg 细胞缺乏而抑制自身反应性淋巴细胞能力下降的现象^[24]。通过向妊娠中期至晚期的自身免疫性疾病敏感的 SJL/J 小鼠注射 IL-2,IL-2 可穿过胎盘并导致后代长期持续的 T 细胞发育加速且倾向于产生促炎 Th1 型细胞的免疫紊乱及旷场活动、理毛和直立行为增加等行为异常^[25](见表 3)。而向雄性 BALB/c 小鼠腹膜内施用 IL-2,不仅导致前额叶皮质的 DA 转换更高,而且还会增加海马和下丘脑中去甲肾上腺素的利用率,同样注射 IL-6 也可获得类似的结果^[26](见表 3)。因此导致后代行为异常的主要过程可能为母体的免疫反应,而不是胎儿的直接感染。

3.2 注射可溶性 IL-2 受体 (sIL-2R) 和可溶性 IL-6 受体 (sIL-6R) 模型

可溶性细胞因子受体是缺乏膜结合受体的正常体液成分,可溶性细胞因子受体作为细胞因子和淋巴细胞活性的调节剂起重要作用,在一些自身免疫病症和精神病症中细胞因子受体增加,它们可以在与免疫激活有关的疾病中充当疾病活动的重要生物标记。向 BALB/c 雄性小鼠单次皮下注射 sIL-2R α 或 β ,其头部运动、理毛、直立、嗅探等刻板行为增加,且伏隔核和前额叶皮层的 c-Fos 表达增加,Fos 样免疫反应的分布和 sIL-2Rs 的沉积部位相似,sIL-2Rs 可能充当新型的脑免疫信使,促进了神经精神病的疾病进程^[27]。此外,可溶性 sIL-6R 水平也与某些自身免疫性疾病和精神疾病的疾病进展呈正相关,在雄性 BALB/c 小鼠中注射重组人 sIL-6R α 后刻板行为和探索性运动行为增加,注射的 sIL-6R 主要定位于与 CSTC 回路相关的脑区,在伏隔核、尾壳核、运动皮质、丘脑核中与 IL-6 跨膜信号蛋白 gp130 共定位;实验证实外源性 sIL-6R 可能作为一种神经免疫信使,穿过血脑屏障靶向作用于富含 IL-6 反式信号蛋白的 CSTC 电路,并诱导重复刻板行为的产生^[28](见表 3)。

4 免疫相关的转基因及特定小鼠品系模型

抽动障碍的发病机制明显受到遗传因素的影响

响,已报道有多个候选基因与抽动障碍相关,且已经开发了几个相应的基因敲除突变小鼠品系模型,如多巴胺转运蛋白基因敲除模型、单胺氧化酶 A 基因敲除模型等^[29]。其中一些转基因及特定小鼠品系,如 Hdc 基因敲除 (Histidine Decarboxylase Knockout, Hdc-KO) 小鼠、BTBR T+tf/J 小鼠品系等,因存在 TD 样行为异常及相关免疫异常,也可作为 TD 免疫相关模型研究。

4.1 Hdc 基因敲除小鼠模型

组氨酸脱羧酶是组胺生物合成的关键酶,在人体中组氨酸脱羧酶由 Hdc 基因编码,Hdc-KO 小鼠无法合成组胺,其抽动样刻板行为明显增加,并且纹状体中多巴胺增加及细胞内信号转导改变,通过在大脑注入组胺、氟哌啶醇可使刻板行为减少,且组胺输注可降低纹状体 DA 水平^[30]。最新的研究表明组胺生物合成的破坏可能通过影响小胶质细胞的功能与 TD 的发生相关:小胶质细胞是中枢神经系统的主要固有免疫细胞,可产生并分泌细胞因子来参与调节炎症和免疫反应,以及细胞生长、存活和分化,介导神经炎症并调节大脑发育^[31-32],Hdc-KO 小鼠组胺缺乏导致纹状体和下丘脑小胶质细胞的分支减少,表达胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 的小胶质细胞减少,因表达 IGF-1 的小胶质细胞具有神经保护作用并限制炎症反应,故将导致对炎症激发反应的过度敏感,如对脂多糖的反应增强^[33],因此 Hdc 敲除可能引起小鼠大脑过度免疫炎症促发了 TD 样改变。

4.2 BTBR T+tf/J 小鼠品系模型

BTBR T+tf/J 小鼠是一种近交系小鼠,常作为孤独症谱系障碍模型^[34],但与 TD 模型中描述的免疫和行为障碍有重合之处,都描述了某些重复刻板行为增加,对比 C57BL/6J 小鼠及 BTBR $\times$ C57BL/6J F1 代小鼠,其大理石掩埋和理毛行为增加,使用多巴胺 D2 受体拮抗剂氟哌啶醇及选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂帕罗西汀可使异常运动减少^[35],研究测定 BTBR 小鼠在没有特定的环境暴露影响下血清 IgG 和 IgE, IgG 抗脑抗体,沉积在大脑中的 IgG 和 IgE 的含量明显增高,细胞因子 IL-1 β , IL-18, IL-33 升高,且分泌 IgG 的 B 细胞数量也增加^[36],这些与主动免疫模型产生的生物学效应类似,表明该品系小鼠本身也可作为 TD 动物模型。

表 3 直接注射免疫因子模型
Table 3 Direct injection of immune factors model

暴露物 Exposure	造模方法 Modeling method	对照组 暴露物 Control group	行为表现 (表面效度) Behaviors (Face validity)	病理改变 (结构效度) Pathological changes (Construct validity)	预测效度 Predictive validity	参考 文献 References
IL-2	对妊娠第 12~16 天的 SJL/J 孕鼠每天腹腔注射含 IL-2 的 PBS SJL/J pregnant mice on the 12th ~ 16th day of pregnancy were intraperitoneally injected with PBS containing IL-2 every day	PBS	旷场活动 ↑、理毛 ↑ 和直立行为 ↑ (长期持续) Open-field activity ↑, grooming ↑, rearing ↑ (long-lasting)	小鼠幼崽的 T 细胞发育 ↑, TH 细胞反应向 TH1 分化倾斜; 同基因 B 淋巴瘤细胞或异基因脾细胞刺激的 IL-2 幼鼠的体外增殖和细胞毒性反应高于对照 PBS 幼鼠 The T cell development of mouse pups ↑, with a skewing toward TH1 cell differentiation; <i>In vitro</i> proliferation and cytotoxicity of IL-2 pups stimulated by syngeneic B lymphoma cells or allogeneic spleen cells were higher than that of control PBS pups	/	[25]
IL-2 IL-6	3 月大的 BALB/c 小鼠腹腔注射 IL-2 或 IL-6 3-month-old BALB/c mice were intraperitoneally injected with IL-2 or IL-6	IL-1β	IL-2: 非动态探索 ↑, 挖掘 ↑, 直立行为 ↑ IL-6: 动态探索 ↑, 挖掘 ↑、直立 ↑, 运动次数 ↑, 理毛行为 ↑ IL-2. Non-ambulatory exploration ↑, digging ↑, rearing ↑ IL-6. Ambulatory exploration ↑, digging ↑, rearing ↑, locomotion ↑, grooming ↑	IL-2: 下丘脑和海马区去甲肾上腺素的利用率以及前额叶皮层中的 DA 转换 ↑ IL-6: 海马区和前额叶皮层中 5-HT 和中皮层 DA 活性 ↑ IL-2. The utilization of norepinephrine in the hypothalamus and hippocampus and the DA conversion in the prefrontal cortex ↑ IL-6. 5-HT and DA activity in the hippocampus and prefrontal cortex ↑	/	[26]
sIL-2R	雄性 BALB/c 小鼠皮下注射 sIL-2Rα 或 sIL-2Rβ Male BALB/c mice were injected subcutaneously with sIL-2Rα or sIL-2Rβ	sIL-1R1 或 PBS sIL-1R1 or PBS	sIL-2Rα 和 sIL-2Rβ: 抬头摇头 ↑、直立 ↑、理毛 ↑、嗅探行为 ↑、转动 ↑ 且 sIL-2Rβ 小鼠的水平和垂直动态活动 ↑ sIL-2Rα and sIL-2Rβ. Head up head bobbing ↑, rearing ↑, grooming ↑, sniffing ↑, turning ↑ sIL-2Rβ, vertical and horizontal ambulatory activity ↑	尾状核、伏隔核和前额叶皮层的 c-Fos 表达 ↑ sIL-2Ra 和 sIL-2Rb 在尾状核、伏隔核壳和核和运动皮层上沉积 C-Fos expression in caudate putamen, nucleus accumbens and prefrontal cortex ↑ sIL-2Ra and sIL-2Rb are deposited on the caudate nucleus, nucleus accumbens shell and nucleus, and motor cortex	/	[27]
sIL-6R	向雄性 BALB/c 小鼠皮下注射重组人 sIL-6Rα Subcutaneous injection of recombinant human sIL-6Rα into male BALB/c mice	PBS	垂直活动 ↑、直立 ↑、转动 ↑、摇头 ↑ Vertical movements ↑, rearing ↑, turning ↑, head bobbing ↑	sIL-6R 与在伏隔核、尾壳核、运动和边缘下皮质以及丘脑核中参与 IL-6 反式信号传递的跨膜蛋白的 gp130 共定位 sIL-6R co-localized with gp130, a transmembrane protein involved in IL-6 trans-signaling, in the nucleus accumbens, caudate-putamen, motor and infralimbic cortices, and thalamic nuclei	/	[28]

5 其他免疫相关模型

1-2,5-二甲氧-4-碘苯-2-氨基丙烷(1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane, DOI) 诱导的大鼠模型为国际上常用的 TD 模型,实验证实该模型血清和纹状体的 IL-6、IL-1β 和 TNF-α 明显升高,且大麻素和硫必利可减少 DOI 大鼠血清和纹状

体中的炎症因子,显著改善大鼠行为学改变,并抑制纹状体 TLR/NF-κB 和 TLR/MAPK 信号通路的激活,而 NF-κB 是最重要的调节蛋白,参与细胞存活、免疫反应和炎症反应等细胞生命活动,TLR2 和 TLR4 与炎症密切相关^[37],并且脂多糖可加重 DOI 诱导的小鼠模型的刻板行为及炎性细胞因子水平,可能与 TD 的复发有关^[38],因此可作为研究 TD 免

疫学变化及治疗药物的模型。

6 讨论

TD 免疫动物模型的验证亦基于目前人类疾病动物模型评价的 3 个因素:(1)表观效度为 TD 临床症状与动物模型行为表现之间的现象学相似性;(2)预测效度是指对经过验证的治疗抽动障碍药物的反应性;(3)结构效度是指基于已知的 TD 疾病病理生理学的理论基础,用于评估抽动障碍的病因学和病理生理学过程与动物模型中行为表现的神经生物学基础之间的一致性^[29,39]。以 3 种效度作为评价现有 TD 免疫模型优势与不足的标准:从表面效度而论,各种免疫动物模型都可模拟人类 TD 某些症状,具有一定的表面效度,但由于 TD 患者的表现复杂多样,而动物模型的行为学表现谱较为狭窄,故不足以全面模拟 TD 患者的临床症状,多数免疫模型主要表现为自主活动如直立或理毛行为增加,可模拟患者的全身性抽动,而直接注射抗体模型异常行为的表现形式更为多样,如舔舐、自咬、啃食等口腔刻板行为明显增加,可模拟患者的口腔部位抽动甚至发声性抽动,注射细胞因子受体模型可见到头部运动的增加,可模拟人头部抽动症状。对于结构效度,目前 TD 的免疫生理病理机制仍未阐明,故免疫模型的结构效度欠佳,但已有学者提出了 GAS 感染后产生了抗神经元的交叉反应性抗体^[8]或大脑固有免疫细胞小胶质细胞异常^[40]与 TD 发病密切相关的猜测和假说,就此而言 GAS 感染模型和 Hdc-KO 模型相对具有一定的结构效度,而相对于 GAS 抗原主动免疫产生特异性抗体而言直接注射抗体的模型缺乏针对性,结构效度较弱,但随着研究的不断推进免疫机制不断被阐释,免疫模型或将具有良好的结构效度。对于预测效度,目前较多的临床实验已证实 TD 患者存在各种免疫异常,且已有研究表明通过免疫调节剂匹多莫德^[41]或抗生素头孢地尼治疗^[42]可减轻 TD 症状,因此针对 TD 免疫异常的治疗方法及药物也会顺势而生,免疫动物模型将具有良好的预测效度,未来的研究可关注于抗炎或抗生素等药物对 TD 免疫系统的作用及治疗反应。另外从技术层面而言,GAS 主动免疫模型造模方法相对较为成熟,模型可复制性强,但抗原制备过程稍复杂;直接注射抗体模型造模方法相对较为简单,但对技术的要求较高,对鼠脑解剖学要熟知,且操作不当可引起脑部感染,对实验结果的

影响因素较多;转基因模型虽靶点精确,但操作较为复杂,价格昂贵,不易制备。总体而言,TD 相关的免疫动物模型研究仍处于初始阶段,由于对 PANDAS 的研究较多,其中的 GAS 抗原主动免疫模型较为成熟,可促进 TD 感染相关临床问题的解决及自身免疫机制的阐明,且异常行为持续时间较长,有利于研究进行。免疫相关的 TD 动物模型重现了一些类似人类 TD 的异常行为,且动物模型出现的多种行为异常和大脑变化与人类 TD 研究中报道的发现高度相关,证实了 TD 患者中存在免疫异常的假设,故推测免疫模型或将成为一种良好的模型。

通过免疫相关模型研究的最新进展,捕获有特定免疫改变的动物模型有望为制定 TD 的有效治疗策略及开发和验证新型药物提供实验平台,未来的研究应关注和确定这些疗法的机制,并明确适用于哪些 TD 儿童;同时免疫相关的动物模型也可对未来 TD 免疫机制的阐明提供基础;对于其免疫机制研究或将明确一些生物标记物,如抗体、细胞因子等改变,由于这些免疫因子的可检测性,对于本病的诊断或预后可提供一定的参考。且模型动物均以服务显示研究为根本研究目的,就目前研究来看,神经-免疫相互作用的病因及发病机制在 TD 的研究地位日渐突出,临床上的人体学研究均显示免疫因素在 TD 发病学中的特殊重要地位,因此免疫相关模型具有超前的预测效度和结构效度,能够指引未来科研的发展,应受到重点的关注。

参 考 文 献 (References)

- [1] Yang C, Zhang L, Zhu P, et al. The prevalence of tic disorders for children in China: a systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(30): e4354.
- [2] Hirschtritt ME, Lee PC, Pauls DL, et al. Lifetime prevalence, age of risk, and genetic relationships of comorbid psychiatric disorders in tourette syndrome [J]. *JAMA Psychiatry*, 2015, 72(4): 325-333.
- [3] 刘芳,叶静萍,姚宝珍,等. 儿童抽动障碍与链球菌感染关系的 Meta 分析 [J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(3): 124-129, 176.
Liu F, Ye JP, Yao BZ, et al. Meta-analysis of the relationship between tic disorder and streptococcal infection in children [J]. *J Med Res*, 2019, 48(3): 124-129, 176.
- [4] Martino D, Zis P, Buttiglione M. The role of immune mechanisms in Tourette syndrome [J]. *Brain Res*, 2015, 1617: 126-143.
- [5] Hsu CJ, Wong LC, Lee WT. Immunological dysfunction in tourette syndrome and related disorders [J]. *Int J Mol Sci*,

- 2021, 22(2): 853.
- [6] Martino D, Chiarotti F, Buttiglione M, et al. The relationship between group A streptococcal infections and Tourette syndrome; a study on a large service-based cohort [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2011, 53(10): 951-957.
 - [7] Blackburn JS. Tic disorders and PANDAS [J]. *Semin Pediatr Neurol*, 2018, 25: 25-33.
 - [8] Spinello C, Laviola G, Macrì S. Pediatric autoimmune disorders associated with streptococcal infections and tourette's syndrome in preclinical studies [J]. *Front Neurosci*, 2016, 10: 310.
 - [9] Murphy TK, Sajid M, Soto O, et al. Detecting pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcus in children with obsessive-compulsive disorder and tics [J]. *Biol Psychiatry*, 2004, 55(1): 61-68.
 - [10] Hoffman KL, Hornig M, Yaddanapudi K, et al. A murine model for neuropsychiatric disorders associated with group A beta-hemolytic streptococcal infection [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(7): 1780-1791.
 - [11] Brimberg L, Benhar I, Mascaro-Blanco A, et al. Behavioral, pharmacological, and immunological abnormalities after streptococcal exposure: a novel rat model of Sydenham chorea and related neuropsychiatric disorders [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2012, 37(9): 2076-2087.
 - [12] Malkova NV, Yu CZ, Hsiao EY, et al. Maternal immune activation yields offspring displaying mouse versions of the three core symptoms of autism [J]. *Brain Behav Immun*, 2012, 26(4): 607-616.
 - [13] Hsiao EY, McBride SW, Chow J, et al. Modeling an autism risk factor in mice leads to permanent immune dysregulation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(31): 12776-12781.
 - [14] Smith SE, Li J, Garbett K, et al. Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6 [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(40): 10695-10702.
 - [15] Bilbo SD, Schwarz JM. The immune system and developmental programming of brain and behavior [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2012, 33(3): 267-286.
 - [16] Hallett JJ, Harling-Berg CJ, Knopf PM, et al. Anti-striatal antibodies in Tourette syndrome cause neuronal dysfunction [J]. *J Neuroimmunol*, 2000, 111(1-2): 195-202.
 - [17] Yeh CB, Shui HA, Chu TH, et al. Hyperpolarisation-activated cyclic nucleotide channel 4 (HCN4) involvement in Tourette's syndrome autoimmunity [J]. *J Neuroimmunol*, 2012, 250(1-2): 18-26.
 - [18] Taylor JR, Morshed SA, Parveen S, et al. An animal model of Tourette's syndrome [J]. *Am J Psychiatry*, 2002, 159(4): 657-660.
 - [19] 赵萌, 刘钊, 邓佳卉. 抽动秽语综合征自身免疫动物模型的建立及评价 [J]. *空军医学杂志*, 2019, 35(3): 206-208, 232.
 - Zhao M, Liu Z, Deng JH. Evaluation of autoimmune animal model of tourette syndrome [J]. *Med J Air Force*, 2019, 35(3): 206-208, 232.
 - [20] Zhang D, Patel A, Zhu Y, et al. Anti-streptococcus IgM antibodies induce repetitive stereotyped movements; cell activation and co-localization with Fc α/μ receptors in the striatum and motor cortex [J]. *Brain Behav Immun*, 2012, 26(4): 521-533.
 - [21] Yaddanapudi K, Hornig M, Serge R, et al. Passive transfer of streptococcus-induced antibodies reproduces behavioral disturbances in a mouse model of pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infection [J]. *Mol Psychiatry*, 2010, 15(7): 712-726.
 - [22] Leckman JF, Katsoyich L, Kawikova I, et al. Increased serum levels of interleukin-12 and tumor necrosis factor- α in Tourette's syndrome [J]. *Biol Psychiatry*, 2005, 57(6): 667-673.
 - [23] Myint AM, Kim YK. Network beyond IDO in psychiatric disorders: Revisiting neurodegeneration hypothesis [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014, 48: 304-313.
 - [24] Martino D, Johnson I, Leckman JF. What does immunology have to do with normal brain development and the pathophysiology underlying tourette syndrome and related neuropsychiatric disorders? [J]. *Front Neurol*, 2020, 11: 567407-567407.
 - [25] Ponzio NM, Servatius R, Beck K, et al. Cytokine levels during pregnancy influence immunological profiles and neurobehavioral patterns of the offspring [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1107: 118-128.
 - [26] Zalcman S, Murray L, Dyck DG, et al. Interleukin-2 and-6 induce behavioral-activating effects in mice [J]. *Brain Res*, 1998, 811(1-2): 111-121.
 - [27] Zalcman SS, Patel A, Mohla R, et al. Soluble cytokine receptors (sIL-2R α , sIL-2R β) induce subunit-specific behavioral responses and accumulate in the cerebral cortex and basal forebrain [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e36316.
 - [28] Patel A, Zhu Y, Kuzhikandathil EV, et al. Soluble interleukin-6 receptor induces motor stereotypies and co-localizes with gp130 in regions linked to cortico-striato-thalamo-cortical circuits [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41623.
 - [29] Godar SC, Mosher LJ, Di Giovanni G, et al. Animal models of tic disorders: a translational perspective [J]. *J Neurosci Methods*, 2014, 238: 54-69.
 - [30] Baldan LC, Williams KA, Gallezot JD, et al. Histidine decarboxylase deficiency causes tourette syndrome; parallel findings in humans and mice [J]. *Neuron*, 2014, 81(1): 77-90.
 - [31] Lenz KM, Nelson LH. Microglia and beyond: innate immune cells as regulators of brain development and behavioral function [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 698.
 - [32] Arcuri C, Mecca C, Bianchi R, et al. The pathophysiological role of microglia in dynamic surveillance, phagocytosis and structural remodeling of the developing CNS [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 191.
 - [33] Frick L, Rapanelli M, Abbasi E, et al. Histamine regulation of microglia: Gene-environment interaction in the regulation of central nervous system inflammation [J]. *Brain Behav Immun*,

- 2016, 57: 326–337.
- [34] 周荣易, 党伟利, 周正, 等. 孤独症谱系障碍动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(3): 380–386.
Zhou RY, Dang WL, Zhou Z, et al. Advances in research of animal models of autism spectrum disorders [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(3): 380–386.
- [35] Amodeo DA, Jones JH, Sweeney JA, et al. Differences in BTBR T+tf/J and C57BL/6J mice on probabilistic reversal learning and stereotyped behaviors [J]. Behav Brain Res, 2012, 227(1): 64–72.
- [36] Heo Y, Zhang Y, Gao D, et al. Aberrant immune responses in a mouse with behavioral disorders [J]. PLoS One, 2011, 6(7): e20912.
- [37] Long H, Wang C, Ruan J, et al. Gastrodin attenuates neuroinflammation in DOI-induced Tourette syndrome in rats [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2019, 33(5): e22302.
- [38] Long HY, Si ZY, Wang CY, et al. Lipopolysaccharide aggravated DOI-induced Tourette syndrome; elaboration for recurrence of Tourette syndrome [J]. Metab Brain Dis, 2017, 32(6): 1929–1934.
- [39] 柯钟灵, 陈燕惠. 抽动障碍动物模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(3): 416–422.
Ke ZL, Chen YH. Research advances in animal models of tic disorder [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(3): 416–422.
- [40] Frick L, Pittenger C. Microglial dysregulation in OCD, tourette syndrome, and PANDAS [J]. J Immunol Res, 2016, 2016: 8606057.
- [41] Li E, Ruan Y, Chen Q, et al. Streptococcal infection and immune response in children with Tourette's syndrome [J]. Childs Nerv Syst, 2015, 31(7): 1157–1163.
- [42] Murphy TK, Parker-Athill EC, Lewin AB, et al. Cefdinir for recent-onset pediatric neuropsychiatric disorders: a pilot randomized trial [J]. J Child Adolesc Psychopharmacol, 2015, 25(1): 57–64.

[收稿日期] 2021–03–23