

孔明慧,鲁力铭,向蕾颖,等. 自闭症动物模型社会互动行为的评估及干预研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(10): 169-178.

Kong MH, Lu LM, Xiang LY, et al. Research progress on the evaluation and intervention of social interaction behaviors in animal models of autism [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(10): 169-178.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.10.020

自闭症动物模型社会互动行为的评估及干预研究进展

孔明慧¹, 鲁力铭¹, 向蕾颖¹, 陈小异^{1*}, 朱志茹^{2*}

(1.重庆师范大学教育科学学院,重庆 401331;2.陆军军医大学医学心理系军事认知心理学教研室,重庆 400038)

【摘要】 自闭症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 是一种高度异质性的神经发育障碍,具有复杂的潜在遗传结构。然而,目前 ASD 正在研究的临床前试验主要通过啮齿类动物模型进行,以测试非药物干预及药物干预对 ASD 核心及相关症状的影响。本文从认知神经机制角度阐述影响社会互动行为的脑区;梳理社会互动的行为学测试实验;对 ASD 的核心和相关症状的有效非药物干预和药物干预进行综述,为下一步促进啮齿类动物模型临床前试验的发展提供参考方向。

【关键词】 自闭症谱系障碍;三箱社交实验;行为学实验;催产素

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 10-0169-10

Research progress on the evaluation and intervention of social interaction behaviors in animal models of autism

KONG Minghui¹, LU Liming¹, XIANG Leiying¹, CHEN Xiaoyi^{1*}, ZHU Zhiru^{2*}

(1. School of Educational Science, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China.

2. Department of Military Cognitive Psychology, College of Medical Psychology, Army Medical University, Chongqing 400038)

【Abstract】 Autism spectrum disorder (ASD) is a highly heterogeneous neurodevelopmental disorder with a complex underlying genetic structure. Current preclinical trials, however, mainly rely on rodent models to test the effects of non-pharmacological and pharmacological interventions on the core and related symptoms of ASD. This paper considers the brain regions that affect social interaction behaviors from the perspective of cognitive neural mechanisms, and reviews behavioral testing experiments, such as the three-chamber social interaction test, visible burrow system, and eco-HAB system. We also summarize effective non-pharmacological and pharmacological interventions, such as baclofen, oxytocin, and metformin, in the core and related symptom areas of ASD. This review aims to provide reference directions to promote the development of preclinical trials using rodent models.

【Keywords】 autism spectrum disorder; three-compartment social interaction test; behavioral experiment; oxytocin

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

社会互动与生活质量密切相关,需要个体的身体功能与社会环境相适应^[1]。当个体出现社会互动障碍时,将影响其社会功能。事实上,社会功能

障碍不仅是抑郁症^[2]、精神分裂症和自闭症谱系障碍等神经精神疾病中一种显著且常见的症状表现,更是这些疾病发展进程中的关键危险因素。自闭

【作者简介】孔明慧 (1997—),女,硕士研究生,研究方向:应用心理。E-mail:kongminghui2018@163.com

【通信作者】陈小异 (1968—),男,博士,教授,研究方向:发展与教育心理学。E-mail:xyichen@163.com

朱志茹 (1974—),女,博士,副教授,研究方向:认知心理学研究。E-mail:zhuzr2013@163.com * 共同通信作者

症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD), 简称自闭症或孤独症, 是一种神经发育障碍疾病, 其临床症状集中于社会互动、社会沟通、重复刻板行为以及感觉反应缺陷等^[3]。据统计, 26 个国家的平均发病率约为 1%^[4], 在美国大约每 36 名的 8 岁儿童中就有 1 名患有 ASD^[5]。我国 ASD 发病率达 0.7%, ASD 患病人群超过 1000 万。其中, 0~14 岁儿童约有 300~500 万人^[6]。除了儿童以外, 成人 ASD 发病率也较为突出, 瑞典成人精神病门诊的新患者中, ASD 患者占比为 18.9%^[7]。ASD 个体的智力功能随着时间的发展无显著变化, 但社会互动行为能够随着个体进入青春期和成年期得到改善, 通过干预措施能改善其生活质量^[8]。由此研究者致力于对 ASD 个体进行系统干预研究, 使其社会互动缺陷得以恢复。

目前关于 ASD 的临床表现症状和病因具有多样性和复杂性。该疾病在同卵双胞胎中 ASD 诊断的一致性高达 90%, 然而, 只有 5%~30% 的 ASD 病例可以用单个基因的突变或基因组重排来解释^[9]。而表达单一突变的遗传模型也并不能完整模拟 ASD 的所有病理特征, 目前国际上通过行为学等手法构建了几种小鼠和大鼠品系, 它们能够较好地模拟 ASD 的核心症状。主要包括以下几种类型: (1) 基因模型。采用基因编辑技术, 对动物的单基因或多基因进行编辑构建的模型。如 Shank3 敲除模型^[10]。(2) 特发性 ASD 模型。通过行为学实验筛选繁育的小鼠或大鼠品系, 如 BTBR T+ Itpr3tf/J (BTBR) 小鼠模型。(3) 环境暴露模型。指暴露于生化刺激、病毒感染或紧张刺激等环境因素而诱发 ASD, 如丙戊酸 (valproic acid, VPA) 暴露模型。

BTBR 小鼠是目前公认的具有 ASD 核心症状的动物模型^[11]。其社交缺陷和刻板行为的症状表现具有稳健性和一致性, 也促进了 BTBR 小鼠在药物研发中的应用^[4]。在小鼠模型的研究中, 社会互动包括同一物种间多种类型的互动, 是小鼠维持适应性生命的基本行为^[12]。小鼠的社会互动行为可分为两个阶段: 食欲阶段和完成阶段。在食欲阶段中, 小鼠倾向于探索同类个体而不是无生命物体, 即社会偏好。小鼠也倾向于探索陌生个体而不是熟悉个体, 即社会识别或社会记忆, 是小鼠产生社会互动行为的基础^[13-14]。在临床试验中, 青少年的社会识别缺陷通常是 ASD 早期的重要标志^[12]。

本文以 BTBR 小鼠模型为主, 同时比较其他啮

齿类动物模型, 回顾其在行为实验中的表现及干预机制研究。阐述影响社会互动行为的认知神经机制及常用的小鼠社会互动行为范式, 重点梳理非药物干预与药物干预对改善小鼠社会互动行为的研究进展。

1 社会互动行为的认知神经机制

临床试验证据表明, 海马体参与社会记忆^[15], 社会记忆是产生适应性社会互动的一种重要能力。社会记忆功能障碍发现在部分神经精神疾病中呈现, 包括自闭症谱系障碍、精神分裂症和重度抑郁^[16]。目前在 BTBR 小鼠的海马体中已证实支持社会记忆的神经回路, 但研究者对其社会互动行为的认知神经机制认识仍存在争议, 当前研究主要集中于小鼠海马体、前额叶皮层以及伏隔核等探究小鼠的社会互动行为。本文总结了近年来, 影响 ASD 小鼠模型社会互动行为的相关脑区的一些最新研究进展 (见表 1)。

1.1 海马体对社会互动的影响

关于海马体对社会互动的影响已有较为明确的研究结论, 本文主要通过海马体的 CA1、CA2、CA3 及 DG 4 个亚区对社会互动行为的影响进行梳理。社会互动包含社会偏好和社会识别, 在海马体的不同神经回路中发挥着不同程度的作用。研究者还进一步深入细化海马体各亚区对社会互动行为的影响, 其中包括背侧和腹侧区域。

在 CA1 中, 研究者发现 Shank3 KO 小鼠的腹侧 CA1 (ventral CA1, vCA1) 社会记忆神经元减少, 海马锐波涟漪 (sharp-wave ripples, SPW-Rs) 中神经元集合尖峰序列受损, 导致社会互动行为障碍^[23]。另外, 通过抑制 Shank3 KO 小鼠的 CA2-vCA1 的神经投射, 结果显示损害了小鼠的社会识别, 在激活 CA2 区域的兴奋性神经元, 或激活 CA2-vCA1 神经回路后, 小鼠的社会识别障碍得到改善^[16]。在 CA3 锥体细胞中, N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 受体中的 NMDA 受体亚单位 1 基因 (NMDA receptor subunit 1 gene, NR1) 的缺失破坏了突触可塑性, 导致小鼠的社会识别缺陷^[24]。研究者发现, 增加颗粒下层 (subgranular zone, SGZ) 的神经发生和扩大 DG 中的新生颗粒神经元能够改善小鼠的社会识别障碍^[25]。综上所述, 海马体的各个亚区能够独立对社会识别产生影响, 也能够通过不同亚区之间的神经投射影响社会互动行为。从 vCA1

和 vCA3 到 LS 的谷氨酸能投射影响社会互动行为^[26]。研究认为 CA1 接受来自 CA3 投射的谢弗氏侧枝 (Schaffer collateral, SC) 也与社会记忆传递相关^[13]。

表 1 ASD 动物模型社会互动行为的相关脑区研究

Table 1 Brain regions associated with social interaction behavior in an animal model of ASD

动物模型 Model	菌株类型 Strain	神经回路 Neural circuits	社会互动缺陷 Social and circuit deficits	干预措施 Rescue
C57BL/6J 小鼠 ^[13] C57BL/6J mice	AAV	vCA1-LS	抑制 vCA1-LS 的神经投射,不影响社会偏好,但损害社会识别 Inhibition of vCA1-LS neural projections does not affect social preferences but impairs social recognition	/
Efr3b ^{U/f} 小鼠 ^[17] Efr3b ^{U/f} mice	Efr3b KO	dCA2	敲除 dCA2 PNs 中 Efr3b 的表达导致小鼠社会缺陷 Knockdown of Efr3b expression in dCA2 PNs results in social deficits	恢复 CA2 PNs 中 Efr3b 的表达,或直接激活 CA2 PNs,可以改善小鼠的社会识别障碍 Restoration of Efr3b expression in CA2 PNs, or direct activation of CA2 PNs, ameliorates social recognition deficits
C57BL/6 小鼠 ^[18] C57BL/6 mice	AAV	LEC-dCA2	抑制 LEC-dCA2 神经回路损害社会互动行为 Inhibition of LEC-dCA2 neural circuitry impairs social interaction behavior	激活该神经投射恢复社会识别行为 Activating its neural projections restores social recognition behaviors
C57BL/6J 小鼠 ^[12] C57BL/6J mice	AAV	dCA3 ^{CaMKIIα+} - dLS ^{CABA+} - PFN ^{Foxb1+} - IPAG	抑制 dCA3 ^{CaMKIIα+} 神经元导致小鼠出现社会识别障碍 Inhibition of dCA3 ^{CaMKIIα+} neurons leads to social recognition deficits in mice	激活 dCA3 ^{CaMKIIα+} 神经元改善小鼠的社会识别行为 Activation of dCA3 ^{CaMKIIα+} neurons improves social recognition behavior in mice
Auts2 ^{fl/fl} ;Emx1-Cre 小鼠 ^[19] Auts2 ^{fl/fl} ;Emx1-Cre mice	Auts2 KO	SuM-DG-CA3	在 DG 中特异性敲除 Auts2 导致小鼠社会识别障碍 Specific knockout of Auts2 in DG leads to impaired social recognition	激活 SuM-DG 回路纠正了 DG-CA3 突触传递,恢复了小鼠的社会识别功能 Activation of this circuit corrects DG-CA3 synaptic transmission and restores social recognition
Wistar 大鼠 Wistar rat ^[20]	VPA	PP-DG	在 DG 区域,VPA 暴露的大鼠后代的社会互动明显受损 In the DG region, social interaction was significantly impaired in the offspring of rat exposed to VPA	/
Eef2 KO 小鼠 ^[21] Eef2 KO mice	Eef2 KO	mPFC	在 mPFC 的兴奋性神经元中特异性敲除 Eef2 导致社会互动障碍 Specific knockdown of Eef2 in excitatory neurons of the mPFC leads to impaired social interaction	激活 mPFC 中兴奋性神经元,或 mPFC 局部输入 AMPAR 增强剂可以改善小鼠的社会识别缺陷 Amelioration of social recognition deficits in mice by chemogenetic activation of excitatory neurons in the mPFC or by local input of AMPAR enhancers to the mPFC
16p11.2 KO 小鼠 ^[22] 16p11.2 KO mice	16p11.2 KO	mPFC	16p11.2 缺失的雌性小鼠的社会识别能力受损,PFC 区域 LFP 功率变化显著高于 WT 小鼠 Social recognition is impaired in 16p11.2-deficient female mice, and LFP power changes in the PFC region are significantly higher than in WT mice	40 Hz 的闪光治疗,PFC 的 LFP 的功率得到有效降低,也逆转了 PFC PNs 的过度兴奋性神经传递,社会识别得到改善 Power of the LFP of the PFC was effectively reduced by 40 Hz flash treatment, which also reversed the hyperexcitability neurotransmission of the PFC PNs, and social recognition was improved

注: AAV:腺相关病毒;LS:外侧隔核;PP:穿孔路径;PNs:锥体神经元;LEC:外侧内嗅皮层;SuM:绒毛上核;AUTS2:自闭症易感因子 2;CaMKIIα+:钙调蛋白激酶 II;PFN:小核;dLS:背侧隔核;IPAG:外侧中脑导水管周围灰质区;OXTR:催产素受体;Eef2:真核延伸因子 2;LFP:局部场电位;WT:野生型。

Note. AAV, Adeno-associated virus. LS, Lateral septal nucleus. PP, Perforant pathway. PNs, Pyramidal neurons. LEC, Lateral entorhinal cortical. SuM, Supramammillary nucleus. AUTS2, Autism susceptibility 2. CaMKIIα+, Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II α. PFN, Parvafox nucleus. dLS, Dorsal lateral septum. IPAG, Lateral periaqueductal gray. OXTR, Oxytocin receptor. Eef2, Eukaryotic elongation factor 2. LFP, Local field potential. WT: Wild type.

1.2 前额叶皮层对社会互动的影响

小鼠的前额叶皮层 (prefrontal cortex, PFC) 在识别熟悉及陌生个体时均存在神经元激活^[13]。而内侧前额叶皮层 (medial prefrontal cortex, mPFC) 是控制社会互动行为的一个关键的大脑区域,在社会行为中起着核心作用^[1]。

通过神经生物学分析, BTBR 小鼠的社会互动行为减少伴随着 PFC 和杏仁核 (Amygdala) 区域的 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 浓度降低, 谷氨酸浓度升高, 表明 BTBR 小鼠的社会互动行为与 PFC 相关^[27]。同时, mPFC 中的神经元与 NAc、杏仁核、腹侧被盖区 (ventral tegmental area, VTA) 和中缝核 (dorsal raphe nucleus, DRN) 等不同的皮层下区域形成神经网络, 并调节社会互动行为。基于 PFC 每个亚区在社会和情绪行为中发挥着不同作用的影响^[28], 在社会互动过程中, 投射到基底外侧杏仁核 (basolateral amygdala, BLA) 的边缘下皮层 (infralimbic cortex, IL) 神经元的活动比投射到 BLA 的前边缘皮层 (prelimbic cortex, PL) 神经元更突出, 抑制 IL-BLA 通路或激活 PL-BLA 通路均导致社会互动行为障碍^[29]。ASD 小鼠模型同样表现出背侧内侧前额叶皮层 (dorsal medial prefrontal cortex, dmPFC) 神经元活动和局部场电位 (local field potential, LFP) 的振荡损伤。在 Shank3 KO 小鼠中, 在社会互动实验中表现社会回避时, dmPFC 的 4~7 Hz 频段的功率显著高于社会接近, 而 C57 小鼠没有表现这种显著变化^[30]。这表明不同脑区之间的连接受到社会互动行为不同方面的影响^[30], 如何维持 mPFC 兴奋性神经元的稳态平衡仍是未来研究的重点。

2 社会互动行为的评估方法

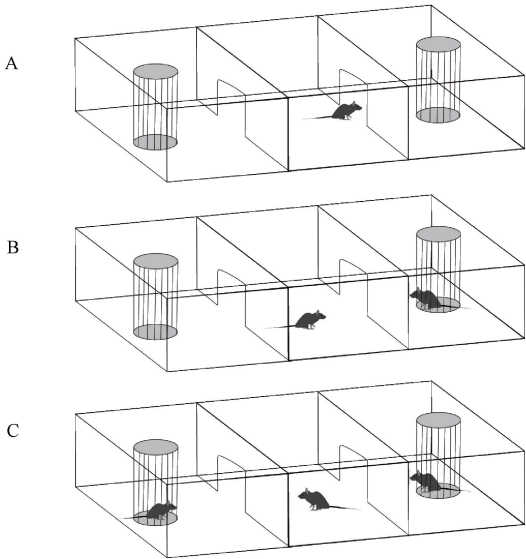
小鼠是群居动物, 具有高度的社会性, 能表现类似人类的社会交往、社交接近等社会互动行为。本文通过测试小鼠的社会互动行为, 从非自然、半自然、全自然 3 个方面介绍行为学实验方法, 主要包括三箱社交实验、可见洞穴系统、生态 HAB 系统。进而探究不同行为学实验的测试评估及实验效果。

2.1 三箱社交实验

三箱社交实验 (three-compartment social interaction test), 是用于测试小鼠社会性的常用实验室行为范式, 已被广泛运用于评估小鼠社会行为的几个方面, 包括社会互动、社会偏好和社会识别。

测试设备包括两个大小相等的腔室和一个中央腔室。在两端腔室放置两个倒置的金属笼, 实验共分 3 个阶段。适应阶段: 测试小鼠放置在中间腔室, 自由探索 5 min (见图 1A)。社会偏好阶段: 在一侧隔间放置一个空的金属笼, 在另一侧隔间放置一个带有小鼠 (1 号小鼠) 的金属笼, 将测试小鼠再次放入中间腔室, 自由探索 10 min (见图 1B)。社会识别阶段: 反转空金属笼和熟悉小鼠 (1 号小鼠) 金属笼的位置, 陌生老鼠 (2 号小鼠) 被放在空金属笼里, 将测试小鼠放入中间腔室, 自由探索 10 min (见图 1C)。这种范式在理论上利用了小鼠的先天社交驱动力, 对社会刺激表现出自发的探索行为^[31]。以停留时间和嗅探次数作为评价指标, 在偏好阶段, 测试小鼠倾向于与小鼠互动, 则社会互动偏好指数越高。在识别阶段, 测试小鼠倾向于与陌生小鼠互动, 则社会识别指数越高, 表明测试小鼠对熟悉小鼠形成识别记忆, 倾向于探索陌生小鼠。

除了三箱社交实验, 还有一种研究者常用的实验范式是社会互动实验。三箱社交实验是一种间接互动实验, 测试小鼠通过金属笼与刺激小鼠进行社会互动, 能够减少刺激小鼠对测试小鼠社交能力的影响。而社会互动实验是一种直接互动实验, 测



注: A: 适应阶段示意图; B: 社会偏好阶段示意图; C: 社会识别阶段示意图。

图 1 三箱社交实验示意图

Note. A, Schematic diagram of the adaptation trial. B, Schematic diagram of the social preference trial. C, Schematic diagram of the social recognition trial.

Figure 1 Schematic diagram of three-compartment social interaction test

试小鼠直接与刺激小鼠进行肢体接触的社会互动。综上所述,三箱社交实验是目前研究社交行为中最为广泛应用的范式,具有适用范围广、经济性高、时效性强的特点。但它是在一种非自然状态下新环境中,短暂的、受限的互动,受到测试环境的光照程度、实验处理以及饲养条件的影响^[32]。

2.2 可见洞穴系统

为了减少三箱社交实验对实验结果造成的影响,研究者引入一种新的社会互动行为研究范式——可见洞穴系统(the visible burrow system, VBS)。VBS 实验是复杂的、半自然生态系统社会行为学范式(见图 2)。VBS 实验可以对小鼠进行纵向监测,提供社会行为动态趋势的解读,包括社会等级形成和社会接触变化。VBS 实验根据小鼠习性模拟隧道和洞穴系统,旨在对小鼠的社会互动行为进行自动评分和技术跟踪,从而获得完整昼夜节律的活动轨迹。实验开始前一周,在小鼠背侧注射芯片,在巢箱中连接几根短隧道以供小鼠可以自由活动,食物和水放在小鼠可以随意进入的开放场地上。在箱体的顶部有两组 LED 灯和红外线用于照明,使用特定的检测装置对社会接近、社会嗅探、社会追随和社会回避进行追踪分析^[14,33]。研究者将 BTBR 小鼠与 C57 小鼠作为研究对象,进行可见洞穴实验和三箱社交实验,结果显示,可见洞穴实验的实验结果与三箱社交实验高度相似,能够测量出 BTBR 小鼠的社交缺陷和刻板行为^[34]。另有研究者为了测试 BTBR 小鼠的社会接近行为和社会回避行为进行 VBS 实验,发现 C57 和 BTBR 小鼠的实验

结果存在显著差异,与 C57 小鼠相比,BTBR 小鼠的社会互动行为表现较少,且更倾向于社会回避^[21]。

综上所述,BTBR 小鼠在 VBS 实验中表现出 24 h 昼夜节律周期的社会缺陷。与三箱社交实验研究不同的是,VBS 实验使用了一种自动行为评分系统,能够连续 7 d 在完整的昼夜节周期中监测 BTBR 和 C57 小鼠的活动,而不是选择一个特定的时间节点^[33]。鉴于目前 VBS 实验的纵向监测方法相对新颖,样本量估计相对困难,还需要进一步拓展研究来建立可靠的分析估计。

2.3 生态 HAB 系统

为减少小鼠所在环境的压力因素对测试结果的影响,研究者也会使用另一种实验范式——生态 HAB 系统(Eco-HAB system, Eco-HAB)——用于测试小鼠的社会互动行为^[32]。Eco-HAB 实验是一个自然环境的、全自动的、基于射频识别系统(radio frequency identification system,RFID)的行为范式(见图 3),旨在长时间记录群居小鼠活动的系统,测试小鼠群体的自发社会互动行为。它由 4 个笼子组成,其中两个装有食物和水,剩下两个为空笼子,通过隧道将各个笼子相连。研究者以 VPA 暴露的 C57 和 BALB 小鼠为研究对象,对 Eco-HAB 实验和三箱社交实验进行比较,VPA 暴露的小鼠表现出社会互动缺陷^[35],通过三箱社交实验能够证实这一点;但也有研究报告显示 VPA 干预能够增加小鼠的社会互动行为^[36],通过 Eco-HAB 实验能证实这一结论^[37]。这提示 Eco-HAB 实验不仅能够作为行为实验,也能成为环境干预的研究方向的工具。而

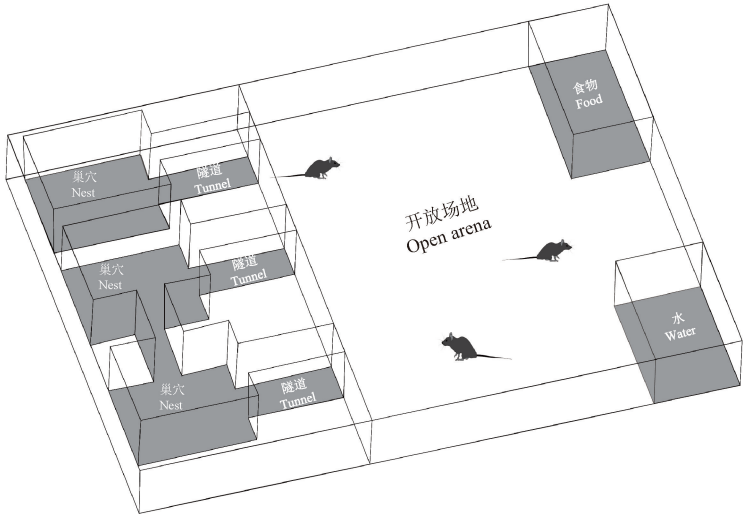


图 2 可见洞穴实验示意图

Figure 2 Schematic diagram of Visible Burrow System(VBS)

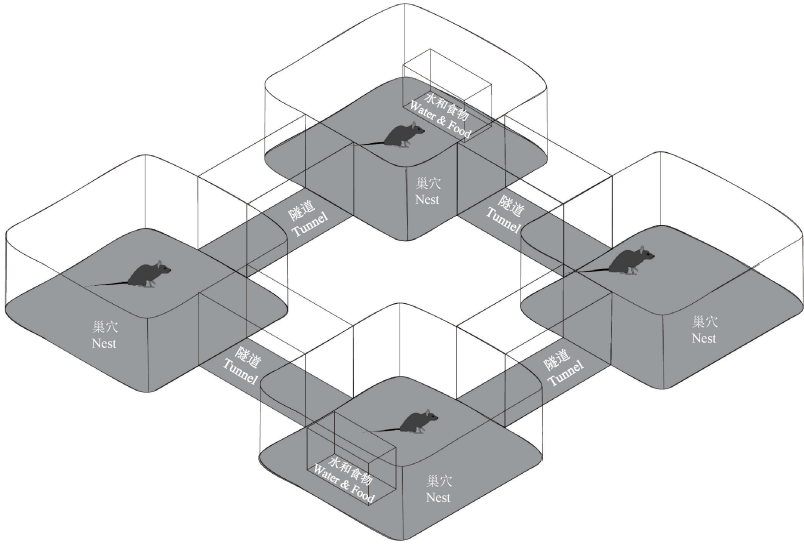


图 3 生态 HAB 实验示意图
Figure 3 Schematic diagram of the Eco-HAB

且,通过 Eco-HAB 实验对小鼠进行为期 10 d 的观察,结果报告 B6 小鼠能形成稳定的社会结构等级,而 BTBR 小鼠却不能形成优势地位^[32]。

综上所述,通过采取 Eco-HAB 实验能在探索中观察到小鼠形成的等级结构和优势地位。在生态系统中加入丰富的环境因素有助于提高 BTBR 的社交能力^[32]。

3 治疗 ASD 社会互动障碍的研究现状

在对 ASD 小鼠模型研究中,社会互动行为干预主要可以分为非药物干预和药物干预。非药物干预主要是通过一些环境、饮食及运动等方式对小鼠进行物理干预,是一种慢性干预。而药物干预是指通过给药的方式,如外部注射、服用抑制性或激活性的药物等,探索药理学手段对小鼠社会互动行为的影响。

3.1 非药物干预

(1) 环境干预。通过富集环境 (environmental enrichment, EE) 的方式对 BTBR 小鼠进行了住房条件干预。婴儿期 BTBR 小鼠被随机分配到标准环境 (standard environment, SE) 或 EE 住房条件,并接受为期 17 周的行为评估。通过三箱社交实验结果表明 BTBR 小鼠在 EE 中,增加了社会互动行为^[38]。值得注意的是,EE 能够改善小鼠的社会偏好,但不影响小鼠的社会识别。另外,Shank3^{ΔC/ΔC} 小鼠在 EE 中也观察到类似的社会互动行为的改善^[33]。

(2) 饮食干预。研究者通过饮食改变或营养补

充的方式干预 ASD 症状,通过生酮饮食 (ketogenic diets, KD),在三箱社交实验中改善了 BTBR 小鼠的社会识别^[39]。并且在临床试验中也观察到社会功能的改善,一份病例报告显示,当一名儿童接受 KD 治疗并发癫痫时,ASD 症状有显著改善^[40]。同样,高脂饮食 (high-fat diet, HFD) 干预在三箱社交实验中增加了 BTBR 的社会互动行为^[41]。这很可能是通过调节肠道微生物群条件,从而维持中枢神经系统内的稳态来实现^[42-44]。

(3) 运动干预。研究报告了游泳能改善 Shank3 KO 小鼠的学习和社会记忆、海马神经发育等方面的异常^[45],但通过跑轮运动的方式对 BTBR 小鼠进行干预,结果表明运动并没有显著减弱 BTBR 小鼠的社会互动缺陷^[46]。这提示对运动模式的选择也会影响社会互动行为的干预效果。而在一些临床试验研究中,除了运动干预对 ASD 有积极影响外,目前还没有关于运动干预的具体建议^[47]。

3.2 药物干预

兴奋性/抑制性 (E/I) 神经传递失衡是自闭症样行为的一个焦点机制^[48]。E-I 平衡是由以谷氨酸能为代表的兴奋性递质系统和以 γ -氨基丁酸能为代表的抑制性递质系统的协同作用,在神经回路的构建中发挥关键作用^[49]。研究者用脑电图 (electroencephalogram, EEG) 检测到 ASD 患者脑内广泛的兴奋性改变,存在 E-I 失衡;而动物实验表明,局部兴奋或抑制性因素改变引起的 E-I 失衡也会导致 ASD 小鼠社会互动障碍^[50]。药物干预主要

通过调节神经传递的 E-I 平衡来干预 ASD 的社会互动缺陷。

(1) 阿巴氯芬 (Arbaclofen), 也称 STX209。研究者对 BTBR 小鼠分别进行急性 1.0、3.0 和 5.0 mg/kg 的阿巴氯芬干预, 通过三箱社交实验结果显示阿巴氯芬干预增加了 BTBR 小鼠的社会互动行为^[51], 另一项研究报告显示, 急性 1.5 mg/kg 阿巴氯芬干预未能改善 BTBR 小鼠的社会互动缺陷^[52], 这可能受到干预剂量和干预周期的影响。目前, 阿巴氯芬正在进行 II 期临床试验^[53], 150 名 5~21 岁的 ASD 参与者接受阿巴氯芬干预, 在文兰适应行为量表 II (vineland adaptive behavior scales II, VASB-II) 的结果中社会互动行为得到很好的改善^[54]。

(2) 催产素 (oxytocin, OXT)。OXT 与催产素受体 (oxytocin receptor, OXTR) 之间的相互作用, 能够促进社会互动行为^[55]。研究者对 Shank3^{-/-} 小鼠进行短期急性 OXT 鼻内给药, 能够改善小鼠的社会互动行为, 但其长期稳定的 OXT 干预及在其他 ASD 小鼠模型的适用性仍需进一步探讨^[56]。尽管临床试验存在争议, 但有研究强调了 OXT 干预婴儿 ASD 的治疗价值^[57]。在短期急性的治疗中, 成人 ASD 患者的症状得以改善^[58], 但在长期稳定的治疗中, 其社会功能没有得到改善^[59]; 最近对 ASD 儿童的 OXT 干预研究显示, 社会和认知功能亦没有改善^[55]。OXT 单一治疗的不理想结果, 以后可能考虑联合治疗的有效性^[60]。尽管 OXT 有很大的前景, 但它在 ASD 患者中的应用目前还不是主要治疗方式^[61]。

(3) 大麻二酚 (cannabidiol, CBD)。CBD 急性治疗改善了 BTBR 小鼠的社会互动行为, 在三箱社交实验中增加了对陌生小鼠的探索时间^[62]。CBD 干预在临床试验中也取得积极效果, 一项随机对照试验 (randomized controlled trials, RCT) 研究了儿童和年轻人的 ASD 患者口服 CBD 制剂, 结果显示 CBD 干预在行为和社会交流方面有积极改善^[63]。

(4) 二甲双胍 (Metformin)。急性二甲双胍干预增强了 BTBR 小鼠对陌生小鼠的社会偏好, 而通过慢性给药饮水 28 d, 三箱社交实验结果显示, 其对 BTBR 小鼠社会偏好没有影响, 但较 C57 小鼠而言, 社会优势有所变化^[64]。VPA 暴露的小鼠和大鼠通过二甲双胍治疗也能观察到社会互动行为的改善^[65]。ASD 儿童比同龄非自闭症儿童的雄激素水平较高, 二甲双胍能够抑制这类雄激素, 在对 6~17

岁的儿童和青少年 ASD 参与者的临床试验研究中, 使用二甲双胍干预的青少年与非典型抗精神病药物使用相关的体重得到有效降低, 且耐受性良好^[66]。

此外, 亚硒酸钠 (sodium selenite, Se) 口服灌胃 28 d 后, 进行三箱社交实验结果显示, BTBR+Se 组社会互动行为要高于 BTBR 组, 这给慢性干预 ASD 提供研究方向^[67]。

4 总结及展望

在动物模型中, 影响社会互动行为的药物已有从 ASD 的临床前试验转移到临床试验。药理探究与药物研发在临床前研究取得积极成果有助于推进临床试验的应用发展^[68]。因此, 进一步优化和构建预测动物模型对药物发现更为重要。(1) 提升模型建构有效性。主要包括两个方面, 一是动物模型与 ASD 的有效接近程度。一般而言, 动物模型呈现的有效性越多, 对 ASD 的预测效果越好, 核心症状的稳定性越高, 那么其用药评估的作用也越好。二是动物模型与 ASD 的有效应用程度。即模型的药理学反应及非药理学反应与临床治疗表现相近程度, 能够为慢性干预提供预测性^[11]。(2) 扩大啮齿类动物模型范围。目前对动物模型的选择主要集中于成年雄性小鼠, 可将小鼠性别、周龄、品系等因素综合考虑; 另外, 研究表明大鼠能提供更复杂的社会互动行为进行临床前试验^[68], 这为扩大研究适用性提供可靠参考。(3) 横向研究与纵向研究相结合。三箱社交实验对小鼠社会互动行为进行横向时间取样, 可考虑与纵向研究相结合, 已有部分研究者使用 VBS 或 Eco-HAB 与三箱社交实验相结合的方式^[34], 能够获得不同时间节点的行为变化和发展趋势。同时, 也可以利用现代科技手段, 如实时小鼠跟踪器 (live mouse tracker, LMT), 一种基于人工智能、机器学习和行为测量方法的评估程序, 能够捕捉口鼻接触、鼻肛嗅探及后肢站立等精细动作^[69], 减少实验测量误差。(4) 急性干预与慢性干预相结合。研究表明, 一次药物干预进行三箱社交实验, 其实验效果是急性、短促的, 如需考虑药物干预的持久性、耐受性和安全性, 还需与慢性药物干预相结合的方式, 从而了解干预的稳定性。目前对药物干预的研究主要以急性、短促为主, 可考虑增加慢性干预, 并对药物的耐受性、安全性有更深入的了解。

参考文献:

[1] LIU L, XU H, WANG J, et al. Cell type-differential modulation of prefrontal cortical GABAergic interneurons on low gamma rhythm and social interaction [J]. Sci Adv, 2020, 6 (30): eaay4073.

[2] ACHTERBERGH L, PITMAN A, BIRKEN M, et al. The experience of loneliness among young people with depression: a qualitative meta-synthesis of the literature [J]. BMC Psychiatry, 2020, 20(1): 415.

[3] BATTLE D E. Diagnostic and statistical manual of mental disorders [J]. Codas, 2013, 25(2):191-192.

[4] CRAWLEY J N. Twenty years of discoveries emerging from mouse models of autism [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2023, 146: 105053.

[5] MAENNER M J, WARREN Z, WILLIAMS A R, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years-autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2020 [J]. MMWR Surveill Summ, 2023, 72(2): 1-14.

[6] 五彩鹿自闭症研究院. 中国自闭症教育康复行业发展状况报告 V [M]. 北京: 光明日报出版社, 2024.

Colorful Deer Autism Research Institute. China autism education and rehabilitation industry development report V [M]. Beijing: Guangming Ribbon Publishing House, 2024.

[7] NYRENIUS J, EBERHARD J, GHAZIUDDIN M, et al. Prevalence of autism spectrum disorders in adult outpatient psychiatry [J]. J Autism Dev Disord, 2022, 52 (9): 3769 -3779.

[8] GRABRUCKER A M. Autism spectrum disorders [M]. Brisbane (AU): Exon Publications, 2021.

[9] VAN DER HEIJDEN M E, GILL J S, SILLITOE R V. Abnormal cerebellar development in autism spectrum disorders [J]. Dev Neurosci, 2021, 43(3/4): 181-190.

[10] 罗卓慧, 庞硕, 张连峰. 常见精神疾病的大、小鼠遗传模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31 (11): 119 -126.

LUO Z H, PANG S, ZHANG L F. Research progress of genetic models of common mental diseases in rats and mice [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(11): 119-126.

[11] 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 R Y, DANG W L, 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.

[12] LIU Y, DENG S L, LI L X, et al. A circuit from dorsal hippocampal CA3 to paravox nucleus mediates chronic social defeat stress-induced deficits in preference for social novelty [J]. Sci Adv, 2022, 8(8): eabe8828.

[13] 游晶晶, 王丹, 孙琳杉, 等. 腹侧 CA1 到外侧隔核的神经元投射参与调控小鼠的社交记忆 [J]. 神经解剖学杂志, 2020, 36(4): 353-361.

YOU J J, WANG D, SUN L S, et al. Projections from the ventral CA1 to the lateral septal nucleus are involved in regulating social memory in mice [J]. Chin J Neuroanat, 2020, 36(4): 353-361.

[14] SATO M, NAKAI N, FUJIMA S, et al. Social circuits and their dysfunction in autism spectrum disorder [J]. Mol Psychiatry, 2023, 28(8): 3194-3206.

[15] QUIAN Q R. How are memories stored in the human hippocampus? [J]. Trends Cogn Sci, 2021, 25(6): 425-426.

[16] COPE E C, WANG S H, WATERS R C, et al. Activation of the CA2-ventral CA1 pathway reverses social discrimination dysfunction in Shank3B knockout mice [J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 1750.

[17] WEI X, WANG J, YANG E, et al. Efr3b is essential for social recognition by modulating the excitability of CA2 pyramidal neurons [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2024, 121 (3): e2314557121.

[18] DANG R, ZHOU Y, ZHANG Y, et al. Regulation of social memory by lateral entorhinal cortical projection to dorsal hippocampal CA2 [J]. Neurosci Bull, 2022, 38 (3): 318 -322.

[19] LI J, SUN X, YOU Y, et al. *Auts2* deletion involves in DG hypoplasia and social recognition deficit: The developmental and neural circuit mechanisms [J]. Sci Adv, 2022, 8 (9): eabk1238.

[20] MOHAMMADKHANI R, GHAREMANI R, SALEHI I, et al. Impairment in social interaction and hippocampal long-term potentiation at perforant pathway-dentate gyrus synapses in a prenatal valproic acid-induced rat model of autism [J]. Brain Commun, 2022, 4(5): fcae221.

[21] MA X, LI L, LI Z, et al. eEF2 in the prefrontal cortex promotes excitatory synaptic transmission and social novelty behavior [J]. EMBO Rep, 2022, 23(10): e54543.

[22] JU J, LI X, PAN Y, et al. Adenosine mediates the amelioration of social novelty deficits during rhythmic light treatment of 16p11.2 deletion female mice [J]. Mol Psychiatry, 2024, 5: s41380-024-02596-4.

[23] TAO K, CHUNG M, WATARAI A, et al. Disrupted social memory ensembles in the ventral hippocampus underlie social *Amnesia* in autism-associated Shank3 mutant mice [J]. Mol Psychiatry, 2022, 27(4): 2095-2105.

[24] CHIANG M C, HUANG A J Y, WINTZER M E, et al. A role for CA3 in social recognition memory [J]. Behav Brain Res, 2018, 354: 22-30.

[25] MENG H, LI Q, WANG J, et al. The expansion of newborn neurons in hippocampus improves social recognition deficit in a mouse model of autism [J]. Front Psychiatry, 2023, 14: 1162179.

[26] YEATES D C M, LEAVITT D, SUJANTHAN S, et al. Parallel ventral hippocampus-lateral septum pathways differentially regulate approach-avoidance conflict [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 3349.

[27] BOVE M, IKE K, ELDERING A, et al. The Visible Burrow System; a behavioral paradigm to assess sociability and social withdrawal in BTBR and C57BL/6J mice strains [J]. Behav Brain Res, 2018, 344: 9-19.

- [28] YASHIMA J, UEKITA T, SAKAMOTO T. The prelimbic cortex but not the anterior cingulate cortex plays an important role in social recognition and social investigation in mice [J]. PLoS One, 2023, 18(4): e0284666.
- [29] HUANG W C, ZUCCA A, LEVY J, et al. Social behavior is modulated by valence-encoding mPFC-amygdala sub-circuitry [J]. Cell Rep, 2020, 32(2): 107899.
- [30] KUGA N, ABE R, TAKANO K, et al. Prefrontal-amygdalar oscillations related to social behavior in mice [J]. eLife, 2022, 11: e78428.
- [31] ARAKAWA H. Revisiting sociability: Factors facilitating approach and avoidance during the three-chamber test [J]. Physiol Behav, 2023, 272: 114373.
- [32] WINIARSKI M, KONDRAKIEWICZ L, KONDRAKIEWICZ K, et al. Social deficits in BTBR T+ Itpr3tf/J mice vary with ecological validity of the test [J]. Genes Brain Behav, 2022, 21(5): e12814.
- [33] PELEH T, IKE K G O, FRENTZ I, et al. Cross-site reproducibility of social deficits in group-housed BTBR mice using automated longitudinal behavioural monitoring [J]. Neuroscience, 2020, 445: 95–108.
- [34] POBBE R L, PEARSON B L, DEFENSOR E B, et al. Expression of social behaviors of C57BL/6J versus BTBR inbred mouse strains in the visible burrow system [J]. Behav Brain Res, 2010, 214(2): 443–449.
- [35] ROULLET F I, LAI J K Y, FOSTER J A. *In utero* exposure to valproic acid and autism—a current review of clinical and animal studies [J]. Neurotoxicol Teratol, 2013, 36: 47–56.
- [36] ŠTEFÁNIK P, OLEXOVÁ L, KRŠKOVÁ L. Increased sociability and gene expression of oxytocin and its receptor in the brains of rats affected prenatally by valproic acid [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2015, 131: 42–50.
- [37] PUŚCIAN A, ŁĘSKI S, KASPROWICZ G, et al. Eco-HAB as a fully automated and ecologically relevant assessment of social impairments in mouse models of autism [J]. eLife, 2016, 5: e19532.
- [38] QUEEN N J, BOARDMAN A A, PATEL R S, et al. Environmental enrichment improves metabolic and behavioral health in the BTBR mouse model of autism [J]. Psychoneuroendocrinology, 2020, 111: 104476.
- [39] OLIVITO I, AVOLIO E, MINERVINI D, et al. Ketogenic diet ameliorates autism spectrum disorders-like behaviors *via* reduced inflammatory factors and microbiota remodeling in BTBR T⁺ Itpr3^{tf}/J mice [J]. Exp Neurol, 2023, 366: 114432.
- [40] HERBERT M R, BUCKLEY J A. Autism and dietary therapy: case report and review of the literature [J]. J Child Neurol, 2013, 28(8): 975–982.
- [41] DENG W, LI F, KE H, et al. Effect of metformin in autistic BTBR T+Itpr3tf/J mice administered a high-fat diet [J]. Brain Res Bull, 2022, 183: 172–183.
- [42] PIETRZAK D, KASPEREK K, RĘKAWEK P, et al. The therapeutic role of ketogenic diet in neurological disorders [J]. Nutrients, 2022, 14(9): 1952.
- [43] JIANG Z, YIN X, WANG M, et al. Effects of ketogenic diet on neuroinflammation in neurodegenerative diseases [J]. Aging Dis, 2022, 13(4): 1146–1165.
- [44] 董丽仙, 尹爱武, 李灿委, 等. 肠道菌群失调与自闭症谱系障碍的相关性研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(6): 95–101.
- [45] DONG L X, YIN A W, LI C W, et al. Research progress on the correlation between gut microbiota and autism spectrum disorders [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(6): 95–101.
- [46] XU D, MENG Y, AN S, et al. Swimming exercise is a promising early intervention for autism - like behavior in Shank3 deletion rats [J]. CNS Neurosci Ther, 2023, 29(1): 78–90.
- [47] FAIRBURN D J, BAIAMONTE B A, GRAY B E, et al. Voluntary exercise attenuates nociceptive abnormalities with no significant alterations of social interaction deficits in the BTBR mouse model of autism [J]. Behav Brain Res, 2022, 420: 113727.
- [48] TOSCANO C V A, BARROS L, LIMA A B, et al. Neuroinflammation in autism spectrum disorders: Exercise as a “pharmacological” tool [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2021, 129: 63–74.
- [49] MEYZA K Z, BLANCHARD D C. The BTBR mouse model of idiopathic autism – Current view on mechanisms [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2017, 76(Pt A): 99–110.
- [50] 石岳, 朱波, 黄宇光. 兴奋-抑制失衡与孤独症谱系障碍:作用机制及治疗进展 [J]. 协和医学杂志, 2023, 14(4): 844–849.
- [51] SHI Y, ZHU B, HUANG Y G. Excitatory-inhibitory imbalance and autism spectrum disorder mechanism and treatment progress [J]. Med J Peking Union Med Coll Hosp, 2023, 14(4): 844–849.
- [52] PARK G, JEON S J, KO I O, et al. Decreased *in vivo* glutamate/GABA ratio correlates with the social behavior deficit in a mouse model of autism spectrum disorder [J]. Mol Brain, 2022, 15(1): 19.
- [53] SILVERMAN J L, PRIDE M C, HAYES J E, et al. GABAB receptor agonist R-baclofen reverses social deficits and reduces repetitive behavior in two mouse models of autism [J]. Neuropsychopharmacology, 2015, 40(9): 2228–2239.
- [54] SHARGHI S, FLUNKERT S, DAURER M, et al. Evaluating the effect of R-Baclofen and LP-211 on autistic behavior of the BTBR and *Fmr1*-KO mouse models [J]. Front Neurosci, 2023, 17: 1087788.
- [55] ERICKSON C A, VEENSTRA-VANDERWEELE J M, MELMED R D, et al. STX209 (arbaclofen) for autism spectrum disorders: an 8-week open-label study [J]. J Autism Dev Disord, 2014, 44(4): 958–964.
- [56] VEENSTRA-VANDERWEELE J, COOK E H, KING B H, et al. Arbaclofen in children and adolescents with autism spectrum disorder: a randomized, controlled, phase 2 trial [J]. Neuropsychopharmacology, 2017, 42(7): 1390–1398.
- [57] JANZ P, KNOFLACH F, BLEICHER K, et al. Selective oxytocin receptor activation prevents prefrontal circuit dysfunction and social behavioral alterations in response to chronic prefrontal cortex activation in male rats [J]. Front Cell Neurosci, 2023,

17: 1286552.

[56] SZABÓ J, MLYNÁR M, FEJEŠ A, et al. Intranasal oxytocin in a genetic animal model of autism [J]. *Mol Psychiatry*, 2024, 29 (2): 342–347.

[57] BERTONI A, SCHALLER F, TYZIO R, et al. Oxytocin administration in neonates shapes hippocampal circuitry and restores social behavior in a mouse model of autism [J]. *Mol Psychiatry*, 2021, 26(12): 7582–7595.

[58] YAMASUE H, OKADA T, MUNESUE T, et al. Effect of intranasal oxytocin on the core social symptoms of autism spectrum disorder: a randomized clinical trial [J]. *Mol Psychiatry*, 2020, 25(8): 1849–1858.

[59] MAYER A V, WERMTER A K, STROTH S, et al. Randomized clinical trial shows no substantial modulation of empathy-related neural activation by intranasal oxytocin in autism [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 15056.

[60] KONG X J, LIU J, LIU K, et al. Probiotic and oxytocin combination therapy in patients with autism spectrum disorder: a randomized, double-blinded, placebo-controlled pilot trial [J]. *Nutrients*, 2021, 13(5): 1552.

[61] AISHWORIYA R, VALICA T, HAGERMAN R, et al. An update on psychopharmacological treatment of autism spectrum disorder [J]. *Neurotherapeutics*, 2022, 19(1): 248–262.

[62] FERREIRA L F, PATHAPATI N, SCHULTZ S T, et al. Acute cannabidiol treatment enhances social interaction in adult male mice [J]. *Adv Drug Alcohol Res*, 2023, 3: 11163.

[63] Palumbo J M, Heussler H, Duhig M J, et al. Longer-term tolerability and efficacy of ZYN002 cannabidiol transdermal gel in children and adolescents with autism spectrum disorder: an open-label phase 2 study (BRIGHT [ZYN2-CL-030]) [J]. *Pediatrics*, 2022, 60(10): S258.

[64] GREENE S, BORDAS B, JIMENEZ P, et al. Therapeutic potential of metformin to ameliorate behavioral symptoms of autism [J]. *FASEB J*, 2021, 35(S1): fasebj. 2021. 35. S1. 02837.

[65] ATIA A A, ASHOUR R H, ZAKI M M, et al. The comparative effectiveness of metformin and risperidone in a rat model of valproic acid-induced autism, Potential role for enhanced autophagy [J]. *Psychopharmacology*, 2023, 240(6): 1313–1332.

[66] ANAGNOSTOU E, AMAN M G, HANDEN B L, et al. Metformin for treatment of overweight induced by atypical antipsychotic medication in young people with autism spectrum disorder: a randomized clinical trial [J]. *JAMA Psychiatry*, 2016, 73(9): 928–937.

[67] WU H, LUAN Y, WANG H, et al. Selenium inhibits ferroptosis and ameliorates autistic-like behaviors of BTBR mice by regulating the Nrf2/GPx4 pathway [J]. *Brain Res Bull*, 2022, 183: 38–48.

[68] CHADMAN K K, FERNANDES S, DILIBERTO E, et al. Do animal models hold value in Autism spectrum disorder (ASD) drug discovery? [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2019, 14(8): 727–734.

[69] MAISTERRENA A, DE CHAUMONT F, LONGUEVILLE J E, et al. Female mice prenatally exposed to valproic acid exhibit complex and prolonged social behavior deficits [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2024, 131: 110948.

[收稿日期]2024-06-10