

【自闭症日】模型小鼠助力科学研究，让“星星的孩子”不再“孤独”

南模生物自主研发的Mecp2条件性基因敲除（Mecp2-CKO）小鼠模型，可用于研究MECP2的生理功能、MECP2基因有关的自闭症与瑞特综合征的治病机制和干预治疗。

2007年12月联合国大会通过决议，从2008年起，将每年的4月2日定为“世界自闭症关注日”，以提高人们对自闭症和相关研究与诊断以及自闭症患者的关注。自闭症的概念1943年由美国约翰斯·霍普金斯大学专家莱奥·坎纳首次提出，自闭症在医学上也称孤独症，是一个尚没有被全社会知道、了解的病症。

MECP2是神经发育的重要基因。MECP2突变或倍增会导致严重的神经发育障碍，如Rett综合征（RTT）和孤独症谱系障碍（ASD）。

由于MeCP2基因与RTT以及ASD的直接联系，可建立包括基因敲除（KO），致病突变敲入（KI）和人MECP2转基因（TG）在内的多种小鼠模型来模拟相关疾病的各种症状，如癫痫、运动缺陷、学习和记忆缺陷、社交障碍以及焦虑等等。

南模生物自主研发的Mecp2条件性基因敲除（Mecp2-CKO）小鼠模型，可用于研究MECP2的生理功能、MECP2基因有关的自闭症与瑞特综合征的治病机制和干预治疗。目前活体供应哦！

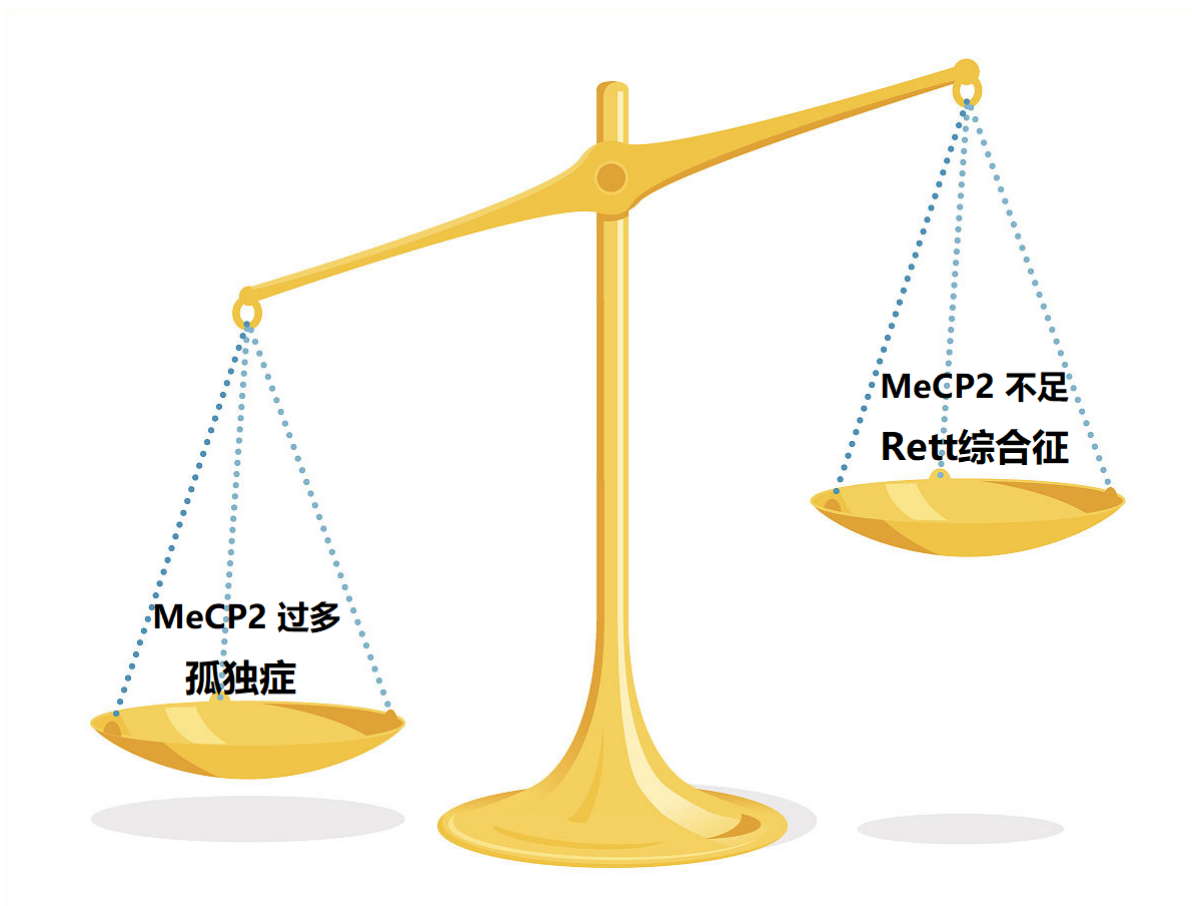


图1. MeCP2在体内的表达量就像一座天平，必须保持精妙的平衡，表达过多或过少，都会导致神经突触及神经系统功能异常。

什么是Rett综合征

Rett综合征是一种严重影响儿童精神运动发育的疾病，发病率为1/10000~1/15000，主要发生在女孩身上。6个月到18个月内开始出现症状，逐步丧失语言和行动能力，表现出运动失常、癫痫、呼吸系统障碍、自闭症状、手部刻板行为，患有这种疾病的大多数患者都会有多种严重的残疾，并且一生都依赖他人的照顾。约96%的Rett综合征病人MECP2基因发生突变。

MeCP2在细胞内的功能

MeCP2蛋白属于甲基化CpG岛结合蛋白的一种(Methylated CpG binding Protein)，在细胞核内（图2），包括：转录阻遏物、microRNA处理器、RNA剪接调节器等。

MeCP2蛋白是一个转录抑制因子，具有募集组蛋白脱乙酰酶复合物的能力，还可以与核受体共阻遏物(NCoR)复合物直接相互作用。MeCP2蛋白第308位苏氨酸的磷酸化是其与NCoR复合物结合的必要条件，带有T308A突变的小鼠MeCP2蛋白无法正常磷酸化，从而表现出癫痫和重复行为症状。

SUMO化（类泛素化）对MeCP2在神经系统中的功能具有关键作用。在MeCP2蛋白的K223位点上的SUMO化对于其与HDAC1复合物的结合至关重要，进一步影响突触功能。而MeCP2蛋白K412位点的SUMO化直接关系到MeCP2的DNA结合能力。Rett综合征(RTT)相关突变显著影响MeCP2的整体SUMO化水平，表明SUMO化对于MeCP2在脑中发挥正常的生理功能具有关键作用。

Mecp2 KO和Mecp2 TG小鼠与WT小鼠相比，Mecp2 KO小鼠中下调的基因更多，包括第一个被鉴定出来Mecp2基因的下游靶点——编码脑源性神经营养因子的BDNF基因；而在Mecp2 TG小鼠中，有更多的基因表达上调。这表明，MeCP2蛋白可能通过转录机制上调基因表达。有研究表明MeCP2蛋白可以直接与DGCR8（DGCR8是细胞核内microRNA处理复合物的关键组分）相互作用，然后通过蛋白第80位丝氨酸的钙依赖性去磷酸化来抑制microRNA加工。MeCP2对microRNA加工的调控具有剂量效应，因此神经发育过程中microRNA的失调也可能导致RTT和ASD病理改变。

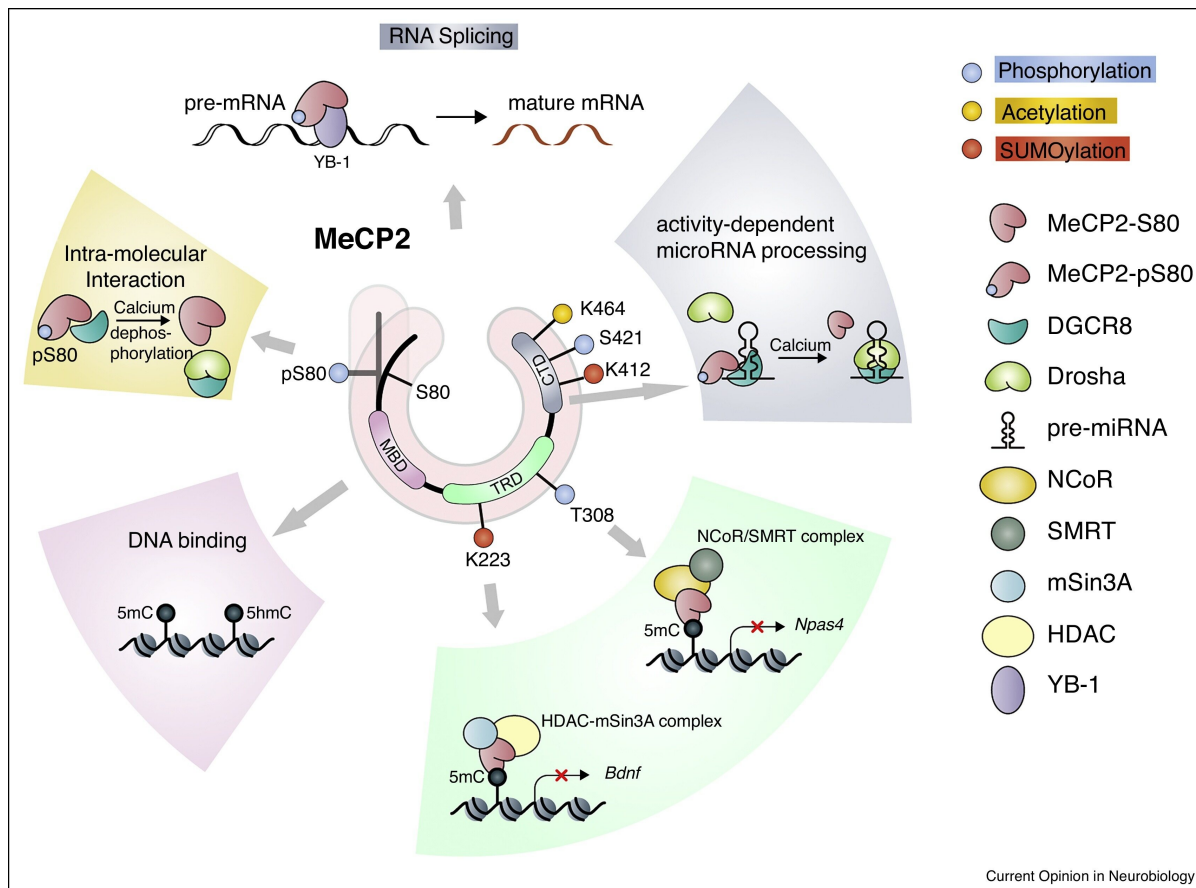


图2. Multiple functions of the MeCP2 protein. MBD: methyl-CpG binding domain. TRD: transcriptional repression domain. CTD: C-terminal domain. Various post-translational modifications are indicated as different color circles.

MeCP2参与神经发育合维持突触内稳态的可塑性

海马神经发生

MeCP2是否参与神经干细胞的发育一直是一个有趣的问题。体外研究表明，MeCP2对神经干细胞的增殖和成熟至关重要。对Mecp2磷酸化缺陷的S421A突变小鼠的研究显示，尽管神经祖细胞的增殖减少，但与野生型小鼠相比，Mecp2 (S421A) 突变使神经元分化增加。此外，Mecp2转基因小鼠成体海马中静止状态的神经干细胞似乎是增加的，导致海马分裂的神经祖细胞减少。重要的是，Mecp2的过表达导致海马中小白蛋白 (parvalbumin) 阳性中间神经元的发育被抑制，表明抑制性回路和海马神经发生与ASD发生发展有关。

突触内稳态可塑性

在Mecp2 KO和Mecp2 TG小鼠中，突触可塑性包括长时程增强（LTP）和长期抑郁（LTD）受到影响。研究认为MeCP2的作用与稳态可塑性相关，不过MeCP2影响LTP和LTD的机制仍然有待阐明。研究人员首先发现Mecp2的表达受神经活动调控，MeCP2蛋白水平的升高继而抑制了GluA2（编码AMPA受体的关键基因）的表达。更重要的是，在Mecp2缺失的神经元中，神经元活动引发的向下突触缩放受到影响，表明MeCP2在内稳态可塑性中的关键作用，而向下突出缩放与MeCP2的S421位的磷酸化密不可分。另一项研究表明，MeCP2对抑制神经活动引起的向上缩放也很重要。有趣的是，黑暗饲养视觉剥夺实验表明，在Mecp2 KO小鼠中，视觉系统中的稳态可塑性确实被破坏了。

GABA能回路

在大脑中，Mecp2在脑中的几乎所有类型的细胞中都有表达，包括神经元和神经胶质细胞。Mecp2缺失使谷氨酸能突触的强度和数量减少；过表达Mecp2，谷氨酸能突触的强度和数量就增加。GABA能神经元中特异性敲除Mecp2在小鼠中产生了明显的表型，包括呼吸问题，寿命缩短，表明Mecp2在GABA能系统的成熟和功能中也发挥重要作用。在小白蛋白阳性神经元中特异性敲除Mecp2也会导致在关键时期突触可塑性的缺失，表明Mecp2在神经发育中对抑制性神经网络的成熟有不可或缺的作用。

组胺能回路

多巴胺能（Th-Cre）或5-羟色胺能神经元（Pet1-Cre）中Mecp2的缺失导致小鼠生物胺的水平明显降低，包括多巴胺、去甲肾上腺素和5-羟色胺，多巴胺能Mecp2 KO小鼠的运动能力受损，而5-羟色胺能Mecp2 KO小鼠的攻击行为增加。用Dlx5/6-Cre敲除纹状体内的Mecp2后，精神运动活动和运动技能学习也随之受到影响；然而，纹状体中的多巴胺水平以非细胞自主方式受到影响，这表明Mecp2对VTA纹状体通路的正常功能至关重要。

胆碱能回路

Mecp2在胆碱能神经元中的敲除会导致包括焦虑增加和社会偏好减少在内的表型。有趣的是，研究表明，基底前脑（BF）中的胆碱能神经元引起了这些表型，并且胆碱能BF-海马回路在Mecp2胆碱能特异性缺失后受到严重影响，提示海马区中的胆碱能调节可能对Rett综合征的病理发展有重要贡献。

小鼠模型：Mecp2拯救RTT或ASD表型

神经发育障碍的特征之一是在神经发育过程中，神经回路的布线会发生错误。一旦回路网络建成，也就是成年后，似乎就不可能再挽救这个错误了。然而，这一“教条”在Mecp2 KO小鼠的案例中被推翻（2006年）（图3）。

建立Mecp2^{lox-Stop/y}小鼠，在小鼠Mecp2基因中插入可被Cre剪切的loxP-STOP-loxP结构。这种特殊的Mecp2 KO小鼠，随后可与细胞类型特异性Cre或雌激素受体融合Cre（Cre-ER）交配，通过精确的时空控制来恢复Mecp2的表达。在将Mecp2^{lox-Stop/y}小鼠与广泛启动子驱动的Cre-ER小鼠杂交后，通过注射他莫昔芬，Mecp2^{lox-Stop/y} Cre-ER小鼠中逐渐重新开始表达Mecp2，包括运动缺陷、海马突触可塑性受损和寿命缩短在内的多种表型都神奇地得到了逆转。

接下来，继续通过将胶质细胞特异性Cre小鼠（hGFAP-CreERT2）与Mecp2^{lox-Stop/y}小鼠交配来研究Mecp2

在神经胶质细胞中的作用，发现神经胶质细胞中Mecp2的重新表达能部分挽救运动障碍和呼吸困难。用胆碱能特异性Cre小鼠（Chat-ires-cre）在胆碱能神经元中重新表达Mecp2，结果运动缺陷和焦虑问题得到缓解，但社交障碍以及小鼠体重和寿命的缺陷没有得到显著改善。

这项出色的工作开启了一种挽救成年期神经发育障碍缺陷的全新尝试，同时也提出了一个有趣的假说，即神经环路在大脑成熟后仍然可能保持惊人的可塑性。

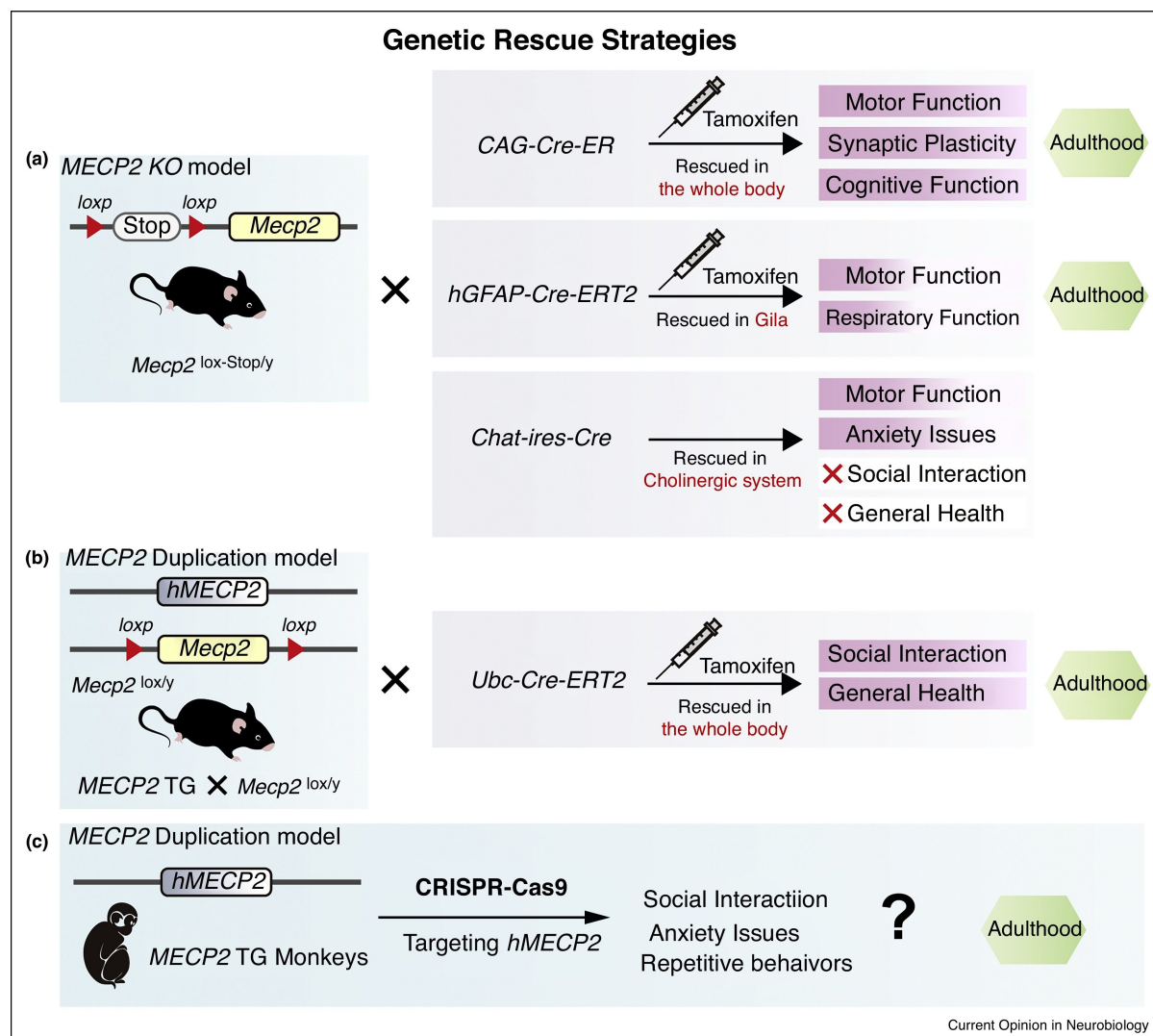


图3. Genetic strategy for rescuing defects in Mecp2 mutant mice and transgenic monkeys. A. Genetic rescue in Mecp2 KO mice. B. Genetic rescue in Mecp2 transgenic mice. C. Potential strategy applied for Mecp2 transgenic monkeys.

对Mecp2 TG小鼠进行基因拯救的策略也表现出可喜的结果。通过将Mecp2 TG小鼠与Mecp2^{lox-Stop/y}，Ubc-Cre-ERT2小鼠交配，在他莫昔芬处理后，MeCP2蛋白恢复至正常水平。研究人员发现，成年小鼠（8-9周龄）MeCP2蛋白水平的恢复挽救了Mecp2 TG小鼠的社交障碍和焦虑行为，这表明自闭症行为对于成人ASD患者也可能是可逆的。对于ASD的另一强有力候选基因Shank3的类似尝试也表明，Shank3基因在成年Shank3缺失小鼠中的基因恢复可以拯救社会缺陷和重复行为，表明自闭症缺陷在成年期通过遗传手段修复具有可行性。

附综述原文: Qiu Z. Deciphering MECP2-associated disorders: disrupted circuits and the hope for repair. *Curr Opin Neurobiol.* 2018 Feb;48:30-36.

[点击订购](#)