

自闭症谱系障碍的分子遗传学研究进展

赵晖¹, 张永超², 张永清¹

1. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 分子发育生物学国家重点实验室, 北京 100101;

2. 中国农业大学生物学院, 北京 100193

摘要: 自闭症谱系障碍(Autism spectrum disorder, ASD)是一类常见神经发育疾病, 以社会交往障碍、刻板重复行为与狭隘的兴趣为主要临床特征。在过去 40 年间, ASD 患病率呈不断上升趋势, 因而日益受到人们关注。近年来由于大规模外显子测序的应用, 发现了许多新的 ASD 易感基因。这些易感基因富集在几个共同的遗传信号通路中, 参与突触形成和染色质重构等。最新的动物模型研究表明, ASD 的发病机制包括神经突触可塑性异常和神经回路兴奋性-抑制性平衡紊乱。本文从 ASD 遗传病因的高度异质性、众多致病基因突变影响的共同生物学过程以及遗传诊断方法和药物研发的进展等几个方面进行了综述, 以期帮助人们深入了解 ASD 的遗传基础和转化研究现状。

关键词: 自闭症谱系障碍; 突触; 染色质重构; 微柱; 兴奋性-抑制性平衡

Recent progresses in molecular genetics of autism spectrum disorders

Hui Zhao¹, Yongchao Zhang², Yong Q. Zhang¹

1. State Key Laboratory of Molecular Developmental Biology, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2. College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: Autism spectrum disorders (ASDs) are common neurodevelopmental disorders characterized by impaired social communication, restricted and repetitive behavior or interests. Over the past 40 years, the reported prevalence for ASDs has been steadily rising world-wide. Due to the application of large-scale exome sequencing in recent years, hundreds of novel ASD associated genes have been identified. These associated genes are enriched in several common genetic signaling pathways such as synapse formation and chromatin remodeling. Intensive studies in animal models have revealed abnormal synaptic plasticity and an imbalanced ratio of excitatory to inhibitory neurotransmission in neural circuits of ASD brains. In this review, we summarize recent advances in (1) genetic heterogeneity of ASDs, (2) molecular pathways disturbed by various genetic mutations in ASDs, and (3) the development of genetic diagnostics and pharmacological treatments for ASDs. This review aims to provide a brief overview of the genetic basis of ASDs and prospects for diagnosis and treatment for ASDs.

Keywords: Autism spectrum disorders; synapse; chromatin remodeling; minicolumn; E/I balance

收稿日期: 2015-06-17; 修回日期: 2015-07-24

基金项目: 科技部生殖与发育专项(编号: 2014CB942803), 国家自然科学基金委(编号: 31110103907 和 31490590)和中国科学院脑先导项目(编号: XDB02020400)资助

作者简介: 赵晖, 博士研究生, 专业方向: 神经生物学。E-mail: zhaohui@genetics.ac.cn

通讯作者: 张永清, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 发育神经生物学和重大神经疾病的动物模型。E-mail: yqzhang@genetics.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.15-281

网络出版时间: 2015-8-5 14:59:25

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150805.1459.002.html>

自闭症谱系障碍(Autism spectrum disorder, ASD)是一类常见的神经发育疾病,诊断标准包括持续的社会交流与互动缺失,刻板重复行为与狭隘的兴趣,这些症状在儿童早期出现并影响了日常生活。谱系是指与 ASD 相关的行为学特征(如社会交流障碍)为由轻到重的连续谱,并且症状轻的一端与正常之间不存在清晰的界限。《精神疾病诊断与统计手册》第五版(DSM-5)^[1]中淡化了 ASD 亚型分类,如 Rett 综合征和语言智力正常的 Asperger 综合征等,而是按照儿童需要照顾的严重程度分成一二三级,一级最需要照顾。

ASD 的患病率(Prevalence)在不同地区间有差异,并且呈逐年增加趋势。美国疾病防治中心报道的患病率为 1.47%^[2],韩国大约为 2.64%^[3],中国还没有官方的 ASD 患病率数据,但综合已发表的研究数据估算患病率约为 0.25%^[4]。ASD 男性患者更多见,男女比例约 4:1,但在重度患者中比例约为 1:1^[5]。

ASD 的致病原因仍有很多未知,多认为遗传因素起了主要作用,同时受环境因素影响,但环境与遗传因素如何相互作用影响 ASD 的发病仍有待研究。双胞胎研究和家系研究揭示了 ASD 的遗传性:同卵双胞胎共同患病率为 70%~90%,而异卵双胞胎为 0~10%^[5]。目前只有少部分 ASD 病人找到了明确的致病原因,如脆性 X 综合征患者为 *FMR1* (*Fragile X mental retardation 1*)突变、Rett 综合征患者为 *MECP2* (*Methyl CpG binding protein 2*)突变;有的则可能是受环境或药物影响,如怀孕早期服用抗癫痫药丙戊酸(Valproic acid, VPA)可能增加后代患 ASD 风险^[1,6]。

使用高分辨率、高通量的测序技术,对以家庭为单位的群组进行系统的突变分析大大加快了寻找 ASD 易感基因的步伐,例如反复出现突变的 *CHD8* (*Chromodomain helicase DNA binding protein 8*)、*SCN2A* (*Sodium channel, voltage gated, type II alpha subunit*)和 *SYNGAP1* (*Synaptic Ras GTPase activating protein 1*)等基因相继被发现^[7-9]。随着找到的易感基因越来越多,这些看起来不相关的基因突变如何产生相似行为学表型?一个可能的假说是不同的基因突变影响了相同的几个信号通路或神经回路,进而产生相似的行为学表型。功能网络分析揭示多个 ASD 基因共同参与突触发育和信号通路调控。本文从以下 3 个方面即 ASD 遗传病因的高度异质性,多

个 ASD 基因参与的特异分子信号通路,以及遗传诊断方法和药物研发的进展进行综述,以期帮助我们对 ASD 的遗传基础和诊治现状有更好的理解。

1 ASD 的遗传病因:基因突变和拷贝数变异

由遗传因素导致的 ASD 病例约占总病例数的 35%^[10],但是几乎任何一种已知的致病突变不会有超过 1% 的 ASD 病例,所以 ASD 不存在主要的遗传病因,而是由众多相对罕见的基因突变造成^[5]。

1.1 ASD 病人的表型多样且遗传因素高度异质

除交流障碍和重复刻板行为等核心症状外,ASD 病人的临床表型极为多样,如智力障碍、语言缺失、焦虑抑郁、癫痫、胃肠功能紊乱和睡眠紊乱等。多样化的表型使部分研究者认为“ASD 是行为表型相似的一系列疾病”^[11]。ASD 病人常有语言交流障碍,大约 30% 的 ASD 儿童到成年也没有语言能力,而 30% 儿童逐渐展示出相对正常的语言能力,尽管早期语言功能也有障碍^[11]。

ASD 的遗传因素存在高度的异质性。符合孟德尔遗传规律的单基因突变造成的综合征类 ASD 病人,如 *MECP2*、*FMR1* 和 *UBE3A* (*Ubiquitin protein ligase E3A*)等,仅占总病例约 10%。影响基因剂量的拷贝数变异(Copy number variants, CNVs)和干扰基因功能的单核苷酸变异(Single nucleotide variant, SNV)约占 ASD 总数的 25%^[10]。同一基因的不同突变导致不同的疾病,如 *SHANK3* 基因的 p.R1117X 突变与精神分裂症相关,而 p.A1227fs 突变与 ASD 相关^[12]。16p11.2 位点的 CNV 可以造成包括 ASD 和精神分裂症等疾病,但该位点的 CNV 可以遗传自表型正常的家庭成员,即父亲或母亲虽然携带相应突变但不发病,并且在未受影响的大众群体中也有携带该 CNV 的个体。这种 ASD 相关遗传变异的表型和基因型不一致的原因可能是基因与环境的互作不同。

1.2 易感基因分类

AutDB(Autism database)是一个公益性的 ASD 研究数据库,收集了目前已发表的与 ASD 相关的遗传突变和动物模型(<http://www.mindspec.org/autdb.html>)。截止 2014 年 10 月, AutDB 收录了 ASD 相关基因 667 个、2087 个 CNVs 位点以及 625 个动物模型(主要是小鼠遗传模型)^[13]。值得注意的是,这些基因中

多数仅是候选基因,它们与 ASD 的相关性并没有经过重复病例或功能研究证实。

在 AutDB 的人类基因模块中将 ASD 易感基因分为综合征类(Syndromic)、非综合征罕见类(Rare)、遗传关联分析发现的低风险类(Association)和未经实验验证的功能候选类(Functional)。一些综合征病人临床表现 ASD 症状,其致病基因已得到鉴定。如脆性 X 综合征和 Rett 综合征,分别由 *FMR1* 和 *MECP2* 突变所致。在非综合征型 ASD 病人中最早发现的突变基因是 *Neurexins* (*NLGN3* 和 *NLGN4*)。非综合征罕见类(Rare)的突变包含单核苷酸变异、小片段的插入和缺失、染色体重排如转座和倒置、单基因的重复和缺失等。普遍认为综合征类和非综合征罕见类与 ASD 关联最强。遗传关联分析发现的低风险类由于在不同研究之间缺乏重复性,因此被认为与 ASD 关联较弱。未经实验验证的功能候选类由于没有直接证据表明和 ASD 相关,因此关联最弱。

1.3 拷贝数变异(CNVs)

CNVs 是指大于 1 kb 的染色体结构变异,包括重复和缺失。CNVs 的鉴定开辟了人类遗传突变研究的新领域。越来越多的遗传性和新发 CNVs 被认为是 ASD 的重要病因,有些出现频率高的 CNVs 被定义为新的 ASD 相关综合征^[14]。染色体结构异常由大片重复或缺失造成,可以用标准细胞遗传学方法鉴定,但 CNVs 的鉴定需要更精准的检测手段^[14]。基于矩阵的比较基因组杂交和单核苷酸多态性分析可以对染色体的基因拷贝数目进行高分辨率的分子检测^[11]。

CNVs 可以是遗传(Inherited)而得,也可以是新生突变(*De novo* mutation)所致。与普通大众相比,ASD 群体中有显著增加的罕见遗传和新发 CNVs,在 ASD 群体中新发 CNVs 的概率大约为 5%~10%,而普通大众为 1%^[14]。如果某一 CNV 跨越了多个基因并且仅在病人中观察到,证明有统计相关性,但仍需后续研究以确定是否为致病因素。大片段的重复和缺失一般包括 50 个或更多基因,具体哪个基因对应病人表型还需在模式生物中进行详细分析。

CNVs 与 ASD 密切相关表明有些基因的拷贝数或表达水平的异常参与 ASD 的病理发生^[15]。基因拷贝数变异本身可能就是 ASD 的风险因素。对酵母的

研究得知对拷贝数敏感的基因主要是编码结构蛋白和调控蛋白,这些蛋白需要精确配比互作。复合体中一个元件的过量或不足可能破坏复合体的组装进而影响其生物学功能,如突触骨架蛋白 SHANK 参与到特定的蛋白与蛋白互作,对剂量特别敏感^[16,17]。

具体到单个染色体位点,15q11-13 和 22q13.3 区段的重复或缺失与 ASD 密切相关。15q11-13 的母源缺失造成 Angelman 综合征(40%~80%的患者自闭),病人有持续微笑、智力障碍、运动障碍和癫痫等表型^[18]。22q13.3 区域小片段缺失引起新生儿肌肉张力减退、语言缺失或严重滞后,整体发育迟缓,且多达 84% 的患者符合 ASD 标准^[16,19]。另外在一个 Asperger 症男孩^[16]、几例精神分裂症病人^[17,20]和几例多动症患者^[17]中,还发现了包含 *SHANK3* 基因的片段重复。

2 ASD 的动物模型和神经生物学基础

受实验操作、材料和伦理的限制,在人体中验证 ASD 的因果关系和研究分子细胞水平的机制明显受限或不可行,因此需要不同的动物模型研究不同的生物学问题,如基因功能缺失如何导致疾病,以及行为学异常背后的神经回路机制。关于 ASD 的发病机制,目前普遍认为突触可塑性异常、神经元兴奋性-抑制性平衡紊乱是 ASD 发病的重要机制。

2.1 ASD 的动物模型

ASD 易感基因与表型间的因果关系需要在模式动物系统中进行验证。目前有一系列脊椎动物和非脊椎动物系统,包括小鼠(*M. musculus*)、斑马鱼(*D. rerio*)、果蝇(*D. melanogaster*)和线虫(*C. elegans*),为从分子到行为学水平研究特定易感基因的生物学功能提供了有效模型。针对如何衡量一个动物疾病模型的价值,Crawley^[21]提出了 3 个层面的有效性:(1)表面有效性(Face validity),模型表现出类似于人类疾病的表型;(2)构建有效性(Construct validity),模型具有和人类疾病相同的致病因素;(3)预测有效性(Predictive validity),对病人有效果的治疗措施对模型也有相似效果。ASD 遗传模型(如基因敲除小鼠)、药物诱导模型(如 VPA 大鼠)和脑结构损毁模型(如猕猴杏仁核切除),都具有一定程度的表面有效性,但不一定具有构建有效性和预测有效性。

2.1.1 非脊椎动物模型

果蝇模式体系具有强大的遗传操作能力和精巧的遗传操作工具,便于进行大规模的遗传筛选,为人类神经发育疾病的基础研究做出了重要贡献。果蝇在解析单基因突变导致的多种疾病(如 Rett 综合征、脆性 X 综合征和 Angelman 综合征)的发病机制中发挥了重要作用^[22]。张永清博士的研究团队长期以果蝇为模型研究脆性 X 综合征的分子生物学机制,并首次报道了 FMRP 通过调控微管稳定性而影响突触发育^[23,24]。此外其他一些 ASD 突变基因的功能也在果蝇中得到解析,如人类 *Neurexin* (*NRXN*)和 *Neurologin* (*NLGN*)同源基因的功能^[25]。除了果蝇,线虫作为遗传上操作简便的动物模型也被用于研究 ASD。线虫中跨突触的 *NRXN-1* 和 *NLGN-1* 可以调节神经肌肉接头在神经递质释放后逆向的突触抑制^[26],进一步揭示了这些突触分子的作用机制。

2.1.2 小鼠 ASD 模型

在小鼠中模拟 ASD 相关的基因突变取得了重要进展。小鼠 *Cntnap2* (*Contactin associated protein-like 2*)敲除、*Nlgn4* 敲除、15q11-13 重复和 *Gabrb3* (*GABA A receptor, subunit beta 3*)敲除,均可表现出与 ASD 相关的表型^[27]。考虑到小鼠和人类在 6 千万年前走上不同的进化道路,引发人类疾病的基因变异不一定在小鼠中产生类似表型。小鼠中特定的行为如何对应人的行为还不清楚,例如超声发声能否对应人的语言功能。因此,必须考虑人和小鼠在分子、神经回路和解剖水平等方面的差异。另一方面,干扰同一个基因的小鼠模型也会存在表型差异,这可能是由于不同的遗传背景或者实验室间不同的实验条件导致。然而,目前对 ASD 的分子和神经回路机制的理解主要来自对小鼠模型的研究。

2.1.3 VPA 大鼠模型

孕妇在怀孕的头 3 个月服用抗癫痫药 VPA 会增加后代患 ASD 的风险。基于这一现象在怀孕大鼠腹腔注射 VPA 被作为一种环境诱发的 ASD 模型^[28]。在神经管闭合期间注射 VPA 产生的后代表现 ASD 样表型,小脑浦肯野细胞数目减少,抑制性神经回路缺陷^[29,30]。这些动物还表现出其他与 ASD 有关的行为如疼痛不太敏感但对非疼痛刺激更加敏感、

重复行为、过度活跃和社会行为减少等^[31]。VPA 大鼠模型同时具备了表面有效性和构建有效性,是否具备预测有效性还尚待研究。

2.1.4 非人灵长类模型

非人灵长类(Non-human primates, NHP)模型可以填补人类和啮齿动物间的空隙。杏仁核切除的 NHP 是最早的 ASD 动物模型,表现出社交与情感异常^[32]。NHP 模型也被用来研究免疫反应对 ASD 发病的作用。生育多个 ASD 患儿母亲的 IgG 抗体注射到怀孕的猕猴中,后代存在异常的刻板行为,与对照相比有偏离正常的社交行为,并且过度活跃^[33]。随着基因编辑技术在 NHP 中的成功应用,因 NHP 与人类的神经回路高度同源,NHP 模型必将在 ASD 研究和药物开发中发挥重要作用。

2.2 ASD 易感基因富集于突触形成、染色质重构等通路

尽管与 ASD 相关的罕见突变涉及数百个基因,有高度的异质性,但众多基因集中到几个共同的通路中,如突触形成和染色质重构等^[34],这为模块化的诊断和治疗提供了依据。

2.2.1 突触异常与 ASD 密切相关

突触蛋白水平异常与 ASD 有关。影响突触蛋白水平的过程有泛素化降解、蛋白质翻译和基因表达调控(图 1)。

突触蛋白泛素化基因如 *UBE3A* 和 *PARK2* (编码一个 E3 泛素连接酶 Parkin)的突变,会导致 ASD。泛素化过程涉及泛素活化酶 E1、结合酶 E2 和连接酶 E3,底物特异性通常由 E3 连接酶提供。*UBE3A* (又名 E6-AP)是一个神经元特异性母源印记基因(神经元中只有母源拷贝表达)编码的 E3 连接酶,其功能缺失会导致 Angelman 综合征。在 *UBE3A* 母源缺失小鼠中树突棘发育异常,即树突棘的密度减少、长度变短^[35]。

突触后致密区在突触的形成和可塑性中发挥重要作用,突触骨架蛋白如 *SHANK2* 和 *SHANK3* 的突变可导致 ASD。*SHANK* 蛋白富集于谷氨酸能突触的 PSD 区,与不同蛋白互作将多种受体连接到细胞骨架上,并与互作蛋白一起调控树突棘的成熟,

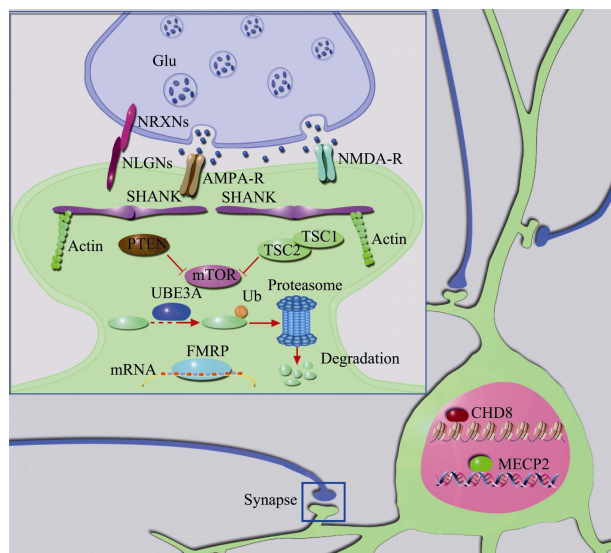


图1 ASD相关蛋白的分子生物学功能
在神经突触(Synapse)中, ASD相关蛋白参与泛素化降解(UBE3A)、突触前后膜识别和粘附(NRXNs和NLGNs)、突触后致密区组装(SHANK)、mRNA翻译(FMRP和mTOR)等过程;在细胞核中, MECP2和CHD8与不同修饰状态的DNA结合,通过染色体重构影响基因表达。

参与兴奋性突触的传导^[12,36,37]。

与ASD相关的基因突变扰乱mRNA的翻译而影响突触的蛋白水平。FMRP是一个选择性RNA结合蛋白,可将mRNA运输至树突并调控其中一些mRNA在突触的翻译,这一过程受到代谢性谷氨酸受体(mGluR)的活性调节。在缺失FMRP蛋白时, mRNA在突触的翻译调控紊乱,进而导致依赖蛋白质合成的突触可塑性异常^[11]。

mTOR通路的诸多基因与ASD有关,这一通路促进mRNA翻译进而调控突触发育^[38]。神经纤维瘤病、结节性硬化症、多发性错构瘤综合征和Lhermitte-Duclos综合征病人临床上常表现ASD症状,这些疾病分别是由抑癌基因*NF1* (*Neurofibromin 1*)、*TSC1/TSC2*和*PTEN* (*Phosphatase and tensin homolog*)显性突变造成^[15]。这些蛋白是对雷帕霉素敏感的mTOR信号通路的抑制性因子, mTOR信号通路与转录激活和细胞增殖有关。有趣的是,小鼠中缺失*Tsc1/Tsc2*或*Pten*常造成神经元过度生长,带有*NF1*、*TSC1/TSC2*和*PTEN*突变的病人有更大概率导致畸形巨头(Macrocephaly)^[15]。

2.2.2 染色质重构

组蛋白经修饰后,通过与识别其特定修饰的多

种蛋白因子相互作用来调控染色质的构象(图1)。MECP2可与甲基化的DNA结合,是重要的转录抑制因子。MECP2也发挥类似组蛋白的功能,其磷酸化过程可调控神经系统发育中响应神经元活性的染色质重构,提示Rett综合征可能由染色质重构缺损导致^[39]。CHD8可识别组蛋白H3K4me2,其突变常导致ASD、畸形巨头和肠胃功能紊乱^[40]。越来越多调控染色质构象和表观遗传的基因被发现其突变会导致神经发育疾病,如染色质调控基因*MBD5* (*Methyl-CpG binding domain protein 5*)和*KMT2D* (*Lysine-specific methyltransferase 2D*)突变导致ASD和ID(智障),但其神经病理学机制还有待更深入细致的研究。

2.3 ASD中神经回路异常

一系列看起来不相关的基因突变可以导致相似的表型,如社交行为障碍,这表明我们需要确立简化的回路水平理论,从而将不同的遗传因素统一到共同的病理生理学框架下。例如神经回路中兴奋性-抑制性比例(E/I比例)增加,可以是兴奋性神经元活性增加,也可以是抑制性神经元功能减弱,从而导致社交和认知障碍^[41](图2A)。使用光遗传学手段激活小鼠前额叶皮质区兴奋性神经元,能导致显著的,也是可逆的,社交功能和认知损伤,但不影响运动能力和焦虑水平^[41]。

从进化的角度看,调控高等认知功能(如语言)的大脑网络更晚出现,未经长期自然选择塑造,因而更缺乏容错机制,易被遗传因素和环境影响。镜像神经元是一类很有趣的运动神经元,当某个个体正在做一个动作并且观察到其他个体做同样动作时放电^[42]。ASD个体的镜像神经元系统可能有缺陷,病人在观察和模仿表情时与对照组相比其镜像神经元的活性降低^[42]。杏仁核参与面部识别、情绪加工等与情感和社会行为有关的过程,ASD儿童尸检结果显示杏仁核神经元存在异常^[43]。在正常成人中,梭形回面孔区(Fusiform face area, FFA)负责面部信息处理,社交障碍严重的ASD患者中FFA-杏仁核连接减弱,FFA-右额下回连接增强^[44]。

ASD患者的颅周记录表明脑大小异常可能与ASD有关。大多数ASD患儿出生时颅周较小或正常,而出生后早期颅周迅速增加并超过正常人,后期增长减慢,于青春期前后达到正常或过大^[45](图2B)。磁共振成像(Magnetic resonance imaging, MRI)

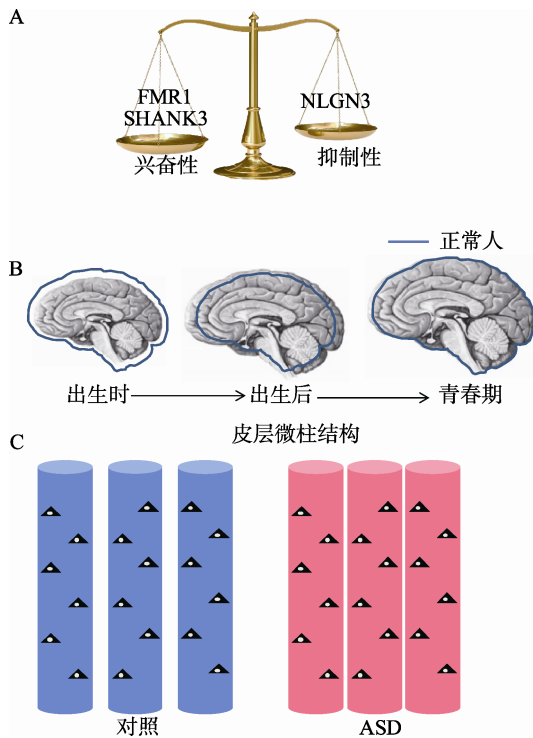


图 2 ASD 的神经病理机制

A: ASD 致病基因突变导致神经回路兴奋性-抑制性平衡紊乱, *FMR1*、*SHANK3* 和 *NLGN3* 突变后导致大脑兴奋性和抑制性平衡的失调; B: 与正常人(蓝色实线范围)相比, ASD 患者(灰色)刚出生时大脑较小,在出生后大脑快速增长超过正常人,而青春期脑大小正常; C: ASD 患者皮层微柱间隙变小,单位面积神经元(三角形)数目增加。改自参考文献[27]。

测试表明 37% 的 ASD 儿童(2~4 岁)符合巨头标准^[45]。ASD 病人脑区的远程连接可能减弱,而局部连接增强,造成异常的脑功能连接^[46]。微柱(Minicolumn)是大脑皮层神经元胞体沿放射状胶质细胞呈线性排布所形成的结构,ASD 患者大脑中微柱结构异常,与正常人相比更多更细^[47](图 2C)。尸检发现 ASD 患者背外侧前额叶皮质(Dorsolateral prefrontal cortex)或布罗德曼氏区(Brodman's area)微柱间距变小,神经元分布更密集^[48]。

3 药物开发、遗传学检测和遗传咨询

3.1 ASD 的药物开发

目前正在使用各种 ASD 小鼠模型进行临床药物筛选,期望能找到改善 ASD 病人核心症状的药物。利培酮(Risperidone)是美国食品药品监督管理局批准的用于减少 ASD 病人易怒性的多巴胺拮抗剂,但目前

还没有针对 ASD 核心症状的药物被批准。

在成年 *Tsc2*^{+/-} 小鼠模型中抑制 mTOR 通路可以恢复突触的可塑性,并挽救认知和社交缺陷表型^[49]。mTOR 与不同蛋白结合可形成 mTORC1 和 mTORC2 两种复合物。雷帕霉素及其衍生物可以抑制 mTORC1 的丝氨酸-苏氨酸激酶活性,新的 mTOR 抑制剂如 Torin 1 和 KU-0063794 能够同时抑制 mTORC1 和 mTORC2,现在正处于早期的临床研究阶段。

Angelman 综合征病人母源拷贝 *UBE3A* 异常,父源拷贝 *UBE3A* 正常但不表达,因此激活神经元中父源 *UBE3A* 的表达是潜在的治疗措施。药物筛选发现拓扑异构酶抑制剂如拓扑替康(Topotecan)和伊立替康(Irinotecan)等可以激活父源 *UBE3A* 基因的表达^[50]。*UBE3A-ATS* 是一种沉默父源 *UBE3A* 表达的长链反义 RNA,针对 *UBE3A-ATS* 的反义 RNA (Antisense oligonucleotides, ASO)有望启动病人脑中父源 *UBE3A* 基因的表达。在 Angelman 综合征小鼠模型中,脑室内注入针对 *UBE3A-ATS* 的反义 RNA,可部分恢复 *UBE3A* 的蛋白水平,并能改善一些认知缺陷^[51]。

在脆性 X 综合征中,缺失 FMRP 蛋白会增强代谢型谷氨酸受体 5(mGluR5)介导的谷氨酸能信号通路,造成突触可塑性缺陷。一些临床前研究表明 mGluR5 拮抗剂可以改善脆性 X 综合征小鼠模型的行为缺陷^[52]。

在 *SHANK3* 突变病人的体外诱导神经元中,胰岛素样生长因子 1(Insulin-like growth factor 1, IGF1)可以挽救成熟兴奋性突触的形成异常和突触传导缺陷^[53]。IGF1 还可以部分挽救 *Mecp2* 突变小鼠的突触结构与功能,显著改善行为并延长寿命^[54]。

催产素(Oxytocin)被广泛用于宫缩控制和泌乳调节,此外多项研究表明催产素在社会交往中发挥重要作用,催产素缺乏或不敏感可能与社交障碍有关^[55]。外源或内源诱导的催产素可以挽救 *Cntnap2* 突变小鼠的社交缺陷^[56]。催产素鼻腔给药可以促进正常人群社会交往并改善孤独症患者社交障碍^[55],提示催产素及其受体激动剂在 ASD 临床治疗中的应用前景。

3.2 遗传学检测

找到 ASD 的致病遗传突变,将对治疗和预后有帮助。2013 年,美国医学遗传学会发布了一系列遗

传学检测建议^[57]。作为初级测试,所有 ASD 儿童要接受染色体微矩阵分析(Chromosomal microarray analysis, CMA),包括比较基因组杂交和单核苷酸多态性分析。次级测试包括:所有男性患者检测脆性 X 突变;所有女性患者和临床症状提示有 MECP2 参与的男性患者要进行 MECP2 测序;有畸形巨头症状的孩子都要做 PTEN 测序^[57]。总的来说,所有 ASD 儿童都需要做 CMA 测试,再依据性别、家族史和临床症状等做进一步检测。随着技术的发展,外显子组测序很有可能取代 CMA 测试,因为两者的花费差不多,但外显子组测序可以给出更多信息。ASD 患者父母经常会问及遗传学检测的临床价值,如果使用上述遗传学检测方法,估计 21% 的 ASD 儿童可以得到诊断信息^[58]。

3.3 遗传咨询

ASD 病人确诊后,针对患者家庭的遗传咨询也很重要。ASD 表型多样性和高度的遗传异质性使得 ASD 遗传咨询工作充满挑战。对于生育 ASD 孩子的父母来说,一个非常现实的问题是下一个孩子患病的风险。遗憾的是这个风险的变化很大,分析起来比较复杂,有多个患病后代或生育了女性患者会增加下一个孩子患病的风险^[59]。比如说,一个母亲育有两个男孩患病,那么她的下一个男孩患病的风险为 32%,如果仅有一个男性患儿,则下一个男孩患病的风险约为 10%^[59]。尽管这些大众群体统计数据会帮助家庭理解后代患 ASD 的风险,但这种宽泛的风险范围限定了这些信息对单个家庭的价值。对患者及其父母进行高通量测序和遗传学检测,以及对遗传因素的准确理解将会实质性地提高患病风险的预测。

4 结语与展望

ASD 给家庭和社会带来沉重的经济和精神负担。早诊断、早干预有助于改善 ASD 患者行为异常,提高生活自理和社会交往能力。产前诊断和遗传学检测为早期筛查提供了条件,但仍需要对 ASD 的遗传学病因有清晰地了解。AutDB 数据库整合了近年来发表的致病性突变,以及支持其致病能力的详细证据,但遗憾的是在数百个 ASD 易感基因中,大部分证据较弱,只有少部分的致病性明确。使用不同的动物模型验证 ASD 的因果关系和研究分子细胞水平

的发病机制取得了重要进展。功能聚类分析揭示高度异质的遗传因素最终通过一些共同的通路导致临床表型,表明治疗手段应该为这些通路量身定制。建立快速遗传学筛查方法和开发靶向治疗药物将给 ASD 患者和家庭带来福音。

参考文献

- [1] American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5). 5th ed. Arlington: American Psychiatric Publishing, 2013. [DOI]
- [2] Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2010 Principal Investigators. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years--autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2010. *MMWR*, 2014, 63(2): 1–21. [DOI]
- [3] Kim YS, Leventhal BL, Koh YJ, Fombonne E, Laska E, Lim EC, Cheon KA, Kim SJ, Kim YK, Lee H, Song DH, Grinker RR. Prevalence of autism spectrum disorders in a total population sample. *Am J Psychiatry*, 2011, 168(9): 904–912. [DOI]
- [4] Wan YM, Hu Q, Li T, Jiang LJ, Du YS, Feng L, Wong JCM, Li CB. Prevalence of autism spectrum disorders among children in China: a systematic review. *Shanghai Arch Psychiatry*, 2013, 25(2): 70–80. [DOI]
- [5] Abrahams BS, Geschwind DH. Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(5): 341–355. [DOI]
- [6] Freitag CM. The genetics of autistic disorders and its clinical relevance: a review of the literature. *Mol Psychiatry*, 2007, 12(1): 2–22. [DOI]
- [7] Neale BM, Kou Y, Liu L, Ma'ayan A, Samocha KE, Sabo A, Lin CF, Stevens C, Wang LS, Makarov V, Polak P, Yoon S, Maguire J, Crawford EL, Campbell NG, Geller ET, Valladares O, Schafer C, Liu H, Zhao T, Cai GQ, Lihm J, Dannenfelser R, Jabado O, Peralta Z, Nagaswamy U, Muzny D, Reid JG, Newsham I, Wu YQ, Lewis L, Han Y, Voight BF, Lim E, Rossin E, Kirby A, Flannick J, Fromer M, Shakir K, Fennell T, Garimella K, Banks E, Poplin R, Gabriel S, DePristo M, Wimbish JR, Boone BE, Levy SE, Betancur C, Sunyaev S, Boerwinkle E, Buxbaum JD, Cook EH, Jr., Devlin B, Gibbs RA, Roeder K, Schellenberg GD, Sutcliffe JS, Daly MJ. Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature*, 2012, 485(7397): 242–245. [DOI]
- [8] Berryer MH, Hamdan FF, Klitten LL, Møller RS, Carmant L, Schwartzentruber J, Patry L, Dobrzaniecka S, Rochefort D, Neugnot-Cerioni M, Lacaille JC, Niu Z, Eng CM,

- Yang YP, Palardy S, Belhumeur C, Rouleau GA, Tommerup N, Immken L, Beauchamp MH, Patel GS, Majewski J, Tarnopolsky MA, Scheffzek K, Hjalgrim H, Michaud JL, Di Cristo G. Mutations in *SYNGAP1* cause intellectual disability, autism, and a specific form of epilepsy by inducing haploinsufficiency. *Hum Mutat*, 2013, 34(2): 385–394. [DOI]
- [9] O’Roak BJ, Vives L, Girirajan S, Karakoc E, Krumm N, Coe BP, Levy R, Ko A, Lee C, Smith JD, Turner EH, Stanaway IB, Vernot B, Malig M, Baker C, Reilly B, Akey JM, Borenstein E, Rieder MJ, Nickerson DA, Bernier R, Shendure J, Eichler EE. Sporadic autism exomes reveal a highly interconnected protein network of *de novo* mutations. *Nature*, 2012, 485(7397): 246–250. [DOI]
- [10] Iossifov I, O’Roak BJ, Sanders SJ, Ronemus M, Krumm N, Levy D, Stessman HA, Witherspoon KT, Vives L, Patterson KE, Smith JD, Paepier B, Nickerson DA, Dea J, Dong S, Gonzalez LE, Mandell JD, Mane SM, Murtha MT, Sullivan CA, Walker MF, Waqar Z, Wei LP, Willsey AJ, Yamrom B, Lee YH, Grabowska E, Dalkic E, Wang ZH, Marks S, Andrews P, Leotta A, Kendall J, Hakker I, Rosenbaum J, Ma BC, Rodgers L, Troge J, Narzisi G, Yoon S, Schatz MC, Ye K, McCombie WR, Shendure J, Eichler EE, State MW, Wigler M. The contribution of *de novo* coding mutations to autism spectrum disorder. *Nature*, 2014, 515(7526): 216–221. [DOI]
- [11] Jeste SS, Geschwind DH. Disentangling the heterogeneity of autism spectrum disorder through genetic findings. *Nat Rev Neurol*, 2014, 10(2): 74–81. [DOI]
- [12] Jiang YH, Ehlers MD. Modeling autism by *SHANK* gene mutations in mice. *Neuron*, 2013, 78(1): 8–27. [DOI]
- [13] Basu SN, Kollu R, Banerjee-Basu S. AutDB: a gene reference resource for autism research. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: D832–D836. [DOI]
- [14] Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, Troge J, Lese-Martin C, Walsh T, Yamrom B, Yoon S, Krasnitz A, Kendall J, Leotta A, Pai D, Zhang R, Lee YH, Hicks J, Spence SJ, Lee AT, Puura K, Lehtimäki T, Ledbetter D, Gregersen PK, Bregman J, Sutcliffe JS, Jobanputra V, Chung W, Warburton D, King MC, Skuse D, Geschwind DH, Gilliam TC, Ye K, Wigler M. Strong association of *de novo* copy number mutations with autism. *Science*, 2007, 316(5823): 445–449. [DOI]
- [15] Toro R, Konyukh M, Delorme R, Leblond C, Chaste P, Fauchereau F, Coleman M, Leboyer M, Gillberg C, Bourgeron T. Key role for gene dosage and synaptic homeostasis in autism spectrum disorders. *Trends Genet*, 2010, 26(8): 363–372. [DOI]
- [16] Durand CM, Betancur C, Boeckers TM, Bockmann J, Chaste P, Fauchereau F, Nygren G, Rastam M, Gillberg IC, Anckarsäter H, Sponheim E, Goubran-Botros H, Delorme R, Chabane N, Mouren-Simeoni MC, de Mas P, Bieth E, Rogé B, Héron D, Burglen L, Gillberg C, Leboyer M, Bourgeron T. Mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein *SHANK3* are associated with autism spectrum disorders. *Nat Genet*, 2007, 39(1): 25–27. [DOI]
- [17] Han K, Holder JL, Jr., Schaaf CP, Lu H, Chen HM, Kang H, Tang JR, Wu ZY, Hao S, Cheung SW, Yu P, Sun H, Breman AM, Patel A, Lu HC, Zoghbi HY. *SHANK3* overexpression causes manic-like behaviour with unique pharmacogenetic properties. *Nature*, 2013, 503(7474): 72–77. [DOI]
- [18] Kwasnicka-Crawford DA, Roberts W, Scherer SW. Characterization of an autism-associated segmental maternal heterodisomy of the chromosome 15q11–13 region. *J Autism Dev Disord*, 2007, 37(4): 694–702. [DOI]
- [19] Betancur C, Buxbaum JD. *SHANK3* haploinsufficiency: a “common” but underdiagnosed highly penetrant monogenic cause of autism spectrum disorders. *Mol Autism*, 2013, 4(1): 17. [DOI]
- [20] Gauthier J, Champagne N, Lafreniere RG, Xiong L, Spiegelman D, Bruste E, Lapointe M, Peng HS, Côté M, Noreau A, Hamdan FF, Addington AM, Rapoport JL, Delisi LE, Krebs MO, Joobor R, Fathalli F, Mouaffak F, Haghighi AP, Néri C, Dubé MP, Samuels ME, Marineau C, Stone EA, Awadalla P, Barker PA, Carbonetto S, Drapeau P, Rouleau GA, the S2D Team. *De novo* mutations in the gene encoding the synaptic scaffolding protein *SHANK3* in patients ascertained for schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(17): 7863–7868. [DOI]
- [21] Crawley JN. Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*, 2004, 10(4): 248–258. [DOI]
- [22] Gatto CL, Broadie K. *Drosophila* modeling of heritable neurodevelopmental disorders. *Curr Opin Neurobiol*, 2011, 21(6): 834–841. [DOI]
- [23] Zhang YQ, Bailey AM, Matthies HJG, Renden RB, Smith MA, Speese SD, Rubin GM, Broadie K. *Drosophila* fragile X-related gene regulates the MAP1B homolog Futsch to control synaptic structure and function. *Cell*, 2001, 107(5): 591–603. [DOI]
- [24] Yao AY, Jin S, Li XH, Liu ZH, Ma XH, Tang J, Zhang YQ. *Drosophila* FMRP regulates microtubule network formation and axonal transport of mitochondria. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(1): 51–63. [DOI]
- [25] Sun MK, Xing GL, Yuan LD, Gan GM, Knight D, With SI, He C, Han JH, Zeng XK, Fang M, Boulianne GL, Xie W.

- Neurologin 2 is required for synapse development and function at the *Drosophila* neuromuscular junction. *J Neurosci*, 2011, 31(2): 687–699. [DOI]
- [26] Hu ZT, Hom S, Kudze T, Tong XJ, Choi S, Aramuni G, Zhang WQ, Kaplan JM. Neurexin and neuroligin mediate retrograde synaptic inhibition in *C. elegans*. *Science*, 2012, 337(6097): 980–984. [DOI]
- [27] Berg JM, Geschwind DH. Autism genetics: searching for specificity and convergence. *Genome Biol*, 2012, 13(7): 247. [DOI]
- [28] Rodier PM, Ingram JL, Tisdale B, Croog VJ. Linking etiologies in humans and animal models: studies of autism. *Reprod Toxicol*, 1997, 11(2–3): 417–422. [DOI]
- [29] Markram H, Rinaldi T, Markram K. The intense world syndrome—an alternative hypothesis for autism. *Front Neurosci*, 2007, 1(1): 77–96. [DOI]
- [30] Tyzio R, Nardou R, Ferrari DC, Tsintsadze T, Shahrokhi A, Eftekhari S, Khalilov I, Tsintsadze V, Brouchoud C, Chazal G, Lemonnier E, Lozovaya N, Burnashev N, Ben-Ari Y. Oxytocin-mediated GABA inhibition during delivery attenuates autism pathogenesis in rodent offspring. *Science*, 2014, 343(6171): 675–679. [DOI]
- [31] Schneider T, Turczak J, Przewlocki R. Environmental enrichment reverses behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: Issues for a therapeutic approach in autism. *Neuropsychopharmacology*, 2006, 31(1): 36–46. [DOI]
- [32] Rosvold HE, Mirsky AF, Pribram KH. Influence of amygdectomy on social behavior in monkeys. *J Comp Physiol Psychol*, 1954, 47(3): 173–178. [DOI]
- [33] Martin LA, Ashwood P, Braunschweig D, Cabanlit M, Van de Water J, Amaral DG. Stereotypies and hyperactivity in rhesus monkeys exposed to IgG from mothers of children with autism. *Brain Behav Immun*, 2008, 22(6): 806–816. [DOI]
- [34] De Rubeis S, He X, Goldberg AP, Poultney CS, Samocha K, Cicek AE, Kou Y, Liu L, Fromer M, Walker S, Singh T, Klei L, Kosmicki J, Fu SC, Aleksic B, Biscaldi M, Bolton PF, Brownfeld JM, Cai JL, Campbell NG, Carracedo A, Chahrour MH, Chiocchetti AG, Coon H, Crawford EL, Crooks L, Curran SR, Dawson G, Duketis E, Fernandez BA, Gallagher L, Geller E, Guter SJ, Hill RS, Ionita-Laza I, Gonzalez PJ, Kilpinen H, Klauck SM, Kolevzon A, Lee I, Lei J, Lehtimäki T, Lin CF, Ma'ayan A, Marshall CR, McInnes AL, Neale B, Owen MJ, Ozaki N, Parellada M, Parr JR, Purcell S, Puura K, Rajagopalan D, Rehnström K, Reichenberg A, Sabo A, Sachse M, Sanders SJ, Schafer C, Schulte-Rüther M, Skuse D, Stevens C, Szatmari P, Tamimies K, Valladares O, Voran A, Wang LS, Weiss LA, Willsey AJ, Yu TW, Yuen RKC, the DDD Study, Homozygosity Mapping Collaborative for Autism, UK10K Consortium, the Autism Sequencing Consortium, Cook EH, Freitag CM, Gill M, Hultman CM, Lehner T, Palotie A, Schellenberg GD, Sklar P, State MW, Sutcliffe JS, Walsh CA, Scherer SW, Zwick ME, Barrett JC, Cutler DJ, Roeder K, Devlin B, Daly MJ, Buxbaum JD. Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. *Nature*, 2014, 515(7526): 209–215. [DOI]
- [35] Dindot SV, Antalffy BA, Bhattacharjee MB, Beaudet AL. The Angelman syndrome ubiquitin ligase localizes to the synapse and nucleus, and maternal deficiency results in abnormal dendritic spine morphology. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(1): 111–118. [DOI]
- [36] Tu JC, Xiao B, Naisbitt S, Yuan JP, Petralia RS, Brakeman P, Doan A, Aakalu VK, Lanahan AA, Sheng M, Worley PF. Coupling of mGluR/Homer and PSD-95 complexes by the shank family of postsynaptic density proteins. *Neuron*, 1999, 23(3): 583–592. [DOI]
- [37] Schmeisser MJ, Ey E, Wegener S, Bockmann J, Stempel AV, Kuebler A, Janssen AL, Udvardi PT, Shibani E, Spilker C, Balschun D, Skryabin BV, Dieckmann St, Smalla KH, Montag D, Leblond CS, Faure P, Torquet N, Le Sourd AM, Toro R, Grubmüller AM, Shoichet SA, Schmitz D, Kreutz MR, Bourgeron T, Gundelfinger ED, Boeckers TM. Autistic-like behaviours and hyperactivity in mice lacking ProSAP1/Shank2. *Nature*, 2012, 486(7402): 256–260. [DOI]
- [38] Peça J, Ting J, Feng GP. SnapShot: Autism and the synapse. *Cell*, 2011, 147(3): 706. [DOI]
- [39] Cohen S, Gabel HW, Hemberg M, Hutchinson AN, Sadacca LA, Ebert DH, Harmin DA, Greenberg RS, Verdine VK, Zhou ZL, Wetsel WC, West AE, Greenberg ME. Genome-wide activity-dependent MeCP2 phosphorylation regulates nervous system development and function. *Neuron*, 2011, 72(1): 72–85. [DOI]
- [40] Bernier R, Golzio C, Xiong B, Stessman HA, Coe BP, Penn O, Witherspoon K, Gerds J, Baker C, Vulto-van Silfhout AT, Schuurs-Hoeijmakers JH, Fichera M, Bosco P, Buono S, Alberti A, Failla P, Peeters H, Steyaert J, Vissers LELM, Francescato L, Mefford HC, Rosenfeld JA, Bakken T, O'Roak BJ, Pawlus M, Moon R, Shendure J, Amaral DG, Lein E, Rankin J, Romano C, de Vries BBA, Katsanis N, Eichler EE. Disruptive *CHD8* mutations define a subtype of autism early in development. *Cell*, 2014, 158(2): 263–276. [DOI]
- [41] Yizhar O, Fenno LE, Prigge M, Schneider F, Davidson TJ,

- O'Shea DJ, Sohal VS, Goshen I, Finkelstein J, Paz JT, Stehfest K, Fudim R, Ramakrishnan C, Huguenard JR, Hegemann P, Deisseroth K. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction. *Nature*, 2011, 477(7363): 171–178. [DOI]
- [42] Watson KK, Platt ML. Of mice and monkeys: using non-human primate models to bridge mouse- and human-based investigations of autism spectrum disorders. *J Neurodev Disord*, 2012, 4(1): 21. [DOI]
- [43] Schumann CM, Hamstra J, Goodlin-Jones BL, Lotspeich LJ, Kwon H, Buonocore MH, Lammers CR, Reiss AL, Amaral DG. The amygdala is enlarged in children but not adolescents with autism; the hippocampus is enlarged at all ages. *J Neurosci*, 2004, 24(28): 6392–6401. [DOI]
- [44] Kleinhans NM, Richards T, Sterling L, Stegbauer KC, Mahurin R, Johnson LC, Greenson J, Dawson G, Aylward E. Abnormal functional connectivity in autism spectrum disorders during face processing. *Brain*, 2008, 131(4): 1000–1012. [DOI]
- [45] Courchesne E, Karns CM, Davis HR, Ziccardi R, Carper RA, Tigue ZD, Chisum HJ, Moses P, Pierce K, Lord C, Lincoln AJ, Pizzo S, Schreibman L, Haas RH, Akshoomoff NA, Courchesne RY. Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder—An MRI study. *Neurology*, 2001, 57(2): 245–254. [DOI]
- [46] Hahamy A, Behrmann M, Malach R. The idiosyncratic brain: distortion of spontaneous connectivity patterns in autism spectrum disorder. *Nat Neurosci*, 2015, 18(2): 302–309. [DOI]
- [47] Casanova MF, Buxhoeveden DP, Switala AE, Roy E. Minicolumnar pathology in autism. *Neurology*, 2002, 58(3): 428–432. [DOI]
- [48] Casanova MF, El-Baz A, Vanbogaert E, Narahari P, Switala A. A topographic study of minicolumnar core width by lamina comparison between autistic subjects and controls: possible minicolumnar disruption due to an anatomical element in-common to multiple laminae. *Brain Pathol*, 2010, 20(2): 451–458. [DOI]
- [49] Ehninger D, Han S, Shilyansky C, Zhou Y, Li WD, Kwiatkowski DJ, Ramesh V, Silva AJ. Reversal of learning deficits in a *Tsc2*^{+/-} mouse model of tuberous sclerosis. *Nat Med*, 2008, 14(8): 843–848. [DOI]
- [50] Huang HS, Allen JA, Mabb AM, King IF, Miriyala J, Taylor-Blake B, Sciaky N, Dutton JW, Jr., Lee HM, Chen X, Jin J, Bridges AS, Zylka MJ, Roth BL, Philpot BD. Topoisomerase inhibitors unsilence the dormant allele of *Ube3a* in neurons. *Nature*, 2012, 481(7380): 185–189. [DOI]
- [51] Meng LY, Ward AJ, Chun S, Bennett CF, Beaudet AL, Rigo F. Towards a therapy for Angelman syndrome by targeting a long non-coding RNA. *Nature*, 2015, 518(7539): 409–412. [DOI]
- [52] Pop AS, Gomez-Mancilla B, Neri G, Willemsen R, Gasparini F. Fragile X syndrome: a preclinical review on metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) antagonists and drug development. *Psychopharmacology (Berl)*, 2014, 231(6): 1217–1226. [DOI]
- [53] Shcheglovitov A, Shcheglovitova O, Yazawa M, Portmann T, Shu R, Sebastiano V, Krawisz A, Froehlich W, Bernstein JA, Hallmayer JF, Dolmetsch RE. SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients. *Nature*, 2013, 503(7475): 267–271. [DOI]
- [54] Tropea D, Giacometti E, Wilson NR, Beard C, McCurry C, Fu DD, Flannery R, Jaenisch R, Sur M. Partial reversal of Rett Syndrome-like symptoms in MeCP2 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(6): 2029–2034. [DOI]
- [55] Andari E, Duhamel JR, Zalla T, Herbrect E, Leboyer M, Sirigu A. Promoting social behavior with oxytocin in high-functioning autism spectrum disorders. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(9): 4389–4394. [DOI]
- [56] Peñagarikano O, Lázaro MT, Lu XH, Gordon A, Dong HM, Lam HA, Peles E, Maidment NT, Murphy NP, Yang XW, Golshani P, Geschwind DH. Exogenous and evoked oxytocin restores social behavior in the *Cntnap2* mouse model of autism. *Sci Transl Med*, 2015, 7(271): 271ra8. [DOI]
- [57] Schaefer GB, Mendelsohn NJ, Professional Practice and Guidelines Committee. Clinical genetics evaluation in identifying the etiology of autism spectrum disorders: 2013 guideline revisions. *Genet Med*, 2013, 15(8): 669. [DOI]
- [58] Cuccaro ML, Czape K, Alessandri M, Lee J, Deppen AR, Bendik E, Dueker N, Nations L, Pericak-Vance M, Hahn S. Genetic testing and corresponding services among individuals with autism spectrum disorder (ASD). *Am J Med Genet A*, 2014, 164A(10): 2592–2600. [DOI]
- [59] Ozonoff S, Young GS, Carter A, Messinger D, Yirmiya N, Zwaigenbaum L, Bryson S, Carver LJ, Constantino JN, Dobkins K, Hutman T, Iverson JM, Landa R, Rogers SJ, Sigman M, Stone WL. Recurrence risk for autism spectrum disorders: a baby siblings research consortium study. *Pediatrics*, 2011, 128(3): e488–e495. [DOI]