

# 脑发育疾病及发病机制

姜义圣, 许执恒

中国科学院遗传与发育生物学研究所发育生物学研究中心, 北京 100101

**摘要:** 大脑发育是一个极其复杂又被精确调控的过程, 主要包括神经前体细胞增殖和分化、神经元迁移和形态发生(包括轴、树突发育)、突触形成与修剪、轴突髓鞘化、神经网络的形成与重塑等过程, 最终形成功能完善的神经系统。其中的任何过程出现问题都有可能导致大脑发育异常, 造成大脑功能障碍, 即脑发育疾病。儿童脑发育疾病在医疗总负担中占比最高, 因此被广泛关注。脑发育疾病通常被划分为两类: 一类以大脑形态结构异常为指标, 即大脑皮层发育畸形(malformation of cortical development, MCD); 另一类以大脑功能障碍为指标, 即神经精神疾病(neuropsychopathy)。大脑皮层发育畸形中的小颅畸形(microcephaly)和神经精神疾病中的孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)这两种疾病具有许多共同之处, 例如小颅畸形致病基因的突变高频地出现在 ASD 病人中。本文针对这两类具有代表性的脑发育疾病, 从症状、病因、机制和相关基因等方面展开介绍, 以期为基础研究和治疗提供理论指导。

**关键词:** 脑发育疾病; 小颅畸形; 孤独症; 致病基因

## Brain developmental diseases and pathogenic mechanisms

Yisheng Jiang, Zhiheng Xu

Department of Developmental Biology, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract:** Development of the human brain is a strictly complex and precisely regulated process. Brain development includes the proliferation and differentiation of neural progenitor cells, migration and maturation of neurons, myelination of neuronal axons, synaptogenesis and organization of the neural circuits. Abnormalities of these developmental processes can lead to severe malformation and dysfunction of the brain, which may result in brain developmental diseases which have a high medical burden and have attracted global attention. Brain developmental diseases are typically divided into two categories according to abnormal brain morphology and dysfunction: malformation of cortical development (MCD) and neuropsychopathy. Microcephaly and autism spectrum disorder (ASD) are representative disorders of MCD and

收稿日期: 2019-05-13; 修回日期: 2019-07-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号 31430037, 31730108)和中国科学院战略性先导科技专项(编号 XDB32020100, QYZDJ-SSW-SMC007, GJHZ1827)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31430037, 31730108) and Strategic Priority Research Program and Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences (Nos. XDB32020100, QYZDJ-SSW-SMC007, GJHZ1827)]

作者简介: 姜义圣, 博士研究生, 专业方向: 细胞生物学。E-mail: ysjiang@genetics.ac.cn

通讯作者: 许执恒, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 信号转导与疾病的病理生理机制。E-mail: zhxu@genetics.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.19-133

网络出版时间: 2019/9/2 16:21:27

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20190902.1620.003.html>

neuropsychopathy respectively. In this review, we summarize the progresses of these two typical and relevant brain developmental diseases including the mechanism and etiology of their development, gene expression, symptoms, and related to provide theoretical guidance for basic research and management and treatment.

**Keywords:** brain developmental diseases; microcephaly; autism; disease associated genes

人类胚胎中枢神经系统的建立始于受精后的第 22 天, 此时神经管开始形成<sup>[1]</sup>。随着发育的进行, 神经管前部膨大形成“脑泡”, 进而发育成大脑。在胚胎发育早期, 位于脑泡内层——室管膜层(ventricular zone, VZ)的神经干(前体)细胞(neural precursor cells, NPCs)大量增殖, 新生成的细胞一部分保持着增殖分化的能力, 逐渐形成亚室管膜层(subventricular zone, SVZ), 另一部分分化成不成熟的神经元, 并沿着位于 VZ 区的放射状胶质细胞(radial glial cell)提供的辐射状突起向外迁徙, 从内

到外逐渐构成各层大脑皮层并形成成熟的神经元和神经网络<sup>[2]</sup>。即使出生后, 大脑依旧会经历着巨大的改变。神经元轴突髓鞘化和突触发生贯穿着整个生命早期, 大脑的重塑一直会持续到成年(图 1)<sup>[3]</sup>。

人类大脑发育是一个极其复杂的过程, 大约有 1/3 的基因在大脑发育过程中表达, 并被精确调控<sup>[3]</sup>。任何发育过程出现错误都有可能引起发育异常, 从而导致脑发育疾病<sup>[4]</sup>。根据侧重点不同, 脑发育疾病通常被划分为两类: 一类是大脑整体结构出现明显异常, 以形态改变为主要特征, 即大脑皮层发育

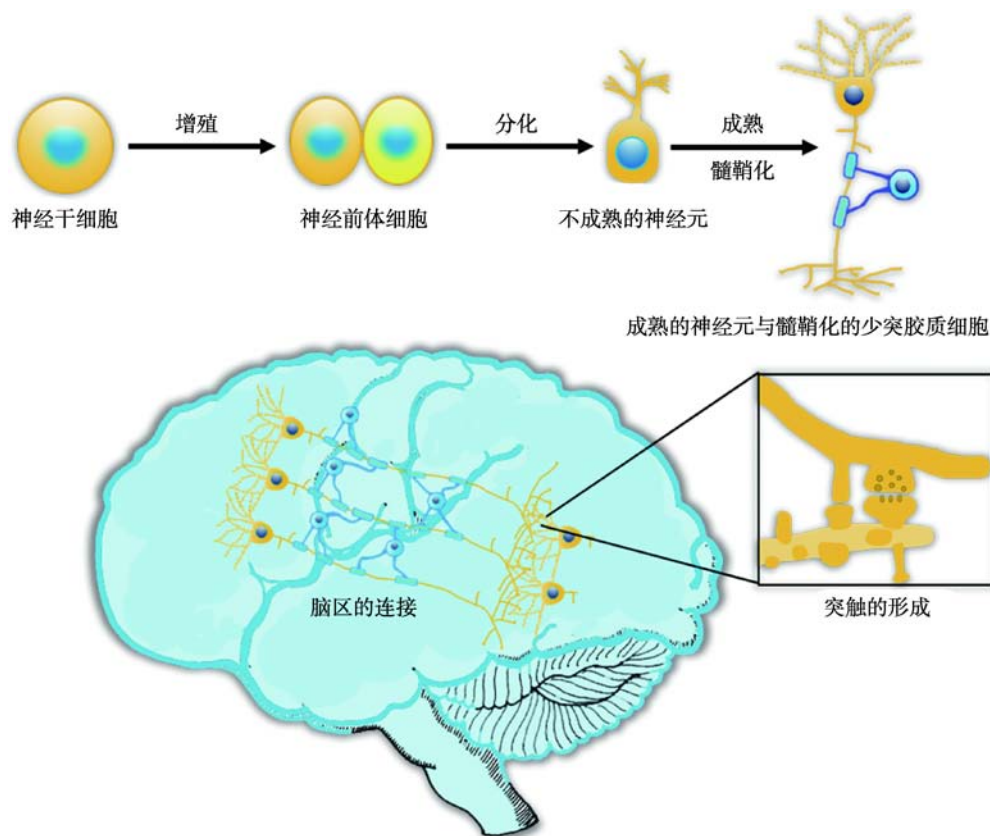


图 1 神经元的形成与神经网络的构建示意图

**Fig. 1 The diagram of neurogenesis and construction of neural network**

神经干细胞通过增殖和分化生成不成熟神经元。之后不成熟神经元发生一系列的形态变化, 包括神经元轴突和树突发育、轴突髓鞘化和树突棘发生等, 逐渐成为成熟的神经元。神经元之间通过轴突末梢和树突棘两者共同形成的突触相互联系, 构成复杂的神经网络。

畸形(malformation of cortical development, MCD); 另一类侧重大脑的功能障碍, 以智力、言语、社交等高级认知和精神活动异常为指标, 即神经精神疾病(neuropsychopathy)。大脑皮层发育畸形中的小颅畸形(microcephaly)和神经精神疾病中的孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)具有许多共同之处。比如, 大多数小颅畸形和 ASD 患儿都智力低下, 许多小颅畸形患儿有孤独症行为, >15%孤独症患儿有小颅畸形, 许多小颅畸形基因突变可能与孤独症相关<sup>[5]</sup>。因此, 本文主要以小颅畸形和 ASD 为例, 对两类脑发育疾病的发病原因和机制展开介绍, 以期为基础研究和治疗提供理论指导。

## 1 大脑皮层发育畸形

大脑皮层发育畸形是一类由遗传、感染和供血异常等因素引起的脑发育异常疾病, 并且常伴随着其他神经系统疾病, 表现为发育迟缓、智力障碍、癫痫和运动障碍等症状<sup>[6]</sup>。目前已经有几百个基因被报道与 MCD 相关<sup>[4]</sup>。根据受影响的起始发育过程的不同, MCD 主要被分为 3 类: (1)神经干细胞增殖异常, 如小颅畸形(microcephaly)、巨脑症(megalocephaly)等; (2)神经元迁移异常, 如室旁结节性异位(periventricular nodular heterotopia)、无脑回畸形(lissencephaly)、鹅卵石脑畸形(cobblestone brain malformation)等; (3)神经元迁移后脑区的构建和连接异常, 如多小脑回(polymicrogyria)、局灶性皮质发育不良(focal cortical dysplasias)等<sup>[4,6]</sup>。但随着对致病基因及其参与的信号通路的研究不断深入, 这 3

类 MCD 的界限逐渐被模糊。例如 *WDR62*、*DYNC1H1* 和 *TUBG1* 等基因的突变可以同时影响多个发育过程, 造成多种大脑皮层发育畸形<sup>[4]</sup>。因此, 这些不同类型的畸形往往不是独立发生的。

### 1.1 小颅畸形

小颅畸形在临床上表现为新生儿的头围与同性别、年龄和种族的孩子比, 低于平均值 2 个及以上标准差, 而严重的小颅畸形则低于平均值 3 个标准差(图 2)<sup>[7,8]</sup>。小颅畸形患者通常伴随着不同程度的其他症状, 如智力低下、癫痫、发育迟缓(语言、站立、行走等)、听力缺失等。严重的小颅畸形会造成流产或危及生命。小颅畸形的发病率并不高, 据统计美国每 10 000 个新生儿中有 2~12 个患有小颅畸形, 但在临床上目前还没有有效的治疗手段<sup>[9]</sup>。

常染色体隐性遗传小颅畸形(autosomal recessive primary microcephaly, MCPH)是一种由单个基因隐性突变引起的罕见疾病, 主要发生在近亲结婚的人群中, 新生儿发病比例为 1/30000~1/250000<sup>[7]</sup>。MCPH 病人有不同程度的智力发育迟缓, 但与某些疾病如无脑回畸形或 Taybi-Linder 综合征引起的小颅畸形不同, 大多数 MCPH 患者的整个脑的结构是完整的, 改变的只是脑的体积<sup>[4,8]</sup>。脑的体积减小在某些条件下会伴随着个体整体生长缺陷, 如布卢姆综合征(Bloom syndrome)和小颅畸形骨发育不良先天性侏儒型(MOPD- )<sup>[7,8]</sup>。严重的小颅畸形也发生在塞克尔综合征(Seckel syndrome)中<sup>[8]</sup>。然而, 并不是所有小颅畸形患者的大脑功能都存在异常, 有些患者除了头小外一切正常<sup>[1]</sup>。



图 2 小颅畸形

Fig. 2 Microcephaly

患有小颅畸形和严重小颅畸形的儿童与正常儿童相比, 头围明显减小。图片来源于美国疾病控制和预防中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)。

### 1.1.1 小颅畸形的成因及发病机制

目前大部分小颅畸形患者的病因尚不明确,但一般认为遗传因素和环境因素导致了该疾病发生。就遗传因素而言,目前已有大量的小颅畸形相关基因被报道。在脑发育的起始阶段,神经干细胞会通过自我更新的对称分裂产生足够多的细胞作为“库存”以满足后续的神经发生。在小颅畸形患病家族中发现的突变基因,多数参与有丝分裂器的装配,或者直接编码中心体或纺锤体极蛋白<sup>[8]</sup>。可以推测这些基因的突变是影响了神经干细胞的增殖。某些 MCPH 相关基因突变已被证实会影响神经前体细胞的细胞周期,导致其过早分化<sup>[10,11]</sup>。

除了基因突变之外,孕期风险因素的暴露也是小颅畸形的成因,包括:感染,如弓形虫、风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)、寨卡病毒(Zika virus, ZIKV)等<sup>[1]</sup>;严重的营养不良;有害物质的暴露,如酒精、药物等;胎儿大脑供血中断等。

### 1.1.2 ZIKV 感染导致小颅畸形

2015~2016 年,一种虫媒病毒——ZIKV 在美洲和热带地区的暴发流行以及先天感染 ZIKV 与新生儿患小颅畸形之间的关联引发了全球关注<sup>[12]</sup>。ZIKV 属于黄病毒科、黄病毒属,单股正链 RNA 病毒,主要由伊蚊叮咬传播,其他传播方式包括母婴传播、性传播、接触传播等<sup>[12~14]</sup>。

研究表明,孕妇感染 ZIKV 后,病毒可以通过胎盘屏障传播给胎儿,进入胎儿大脑并首先特异性地感染神经干细胞,引起神经干细胞增殖分化减少,随后感染新生神经元并造成其大量凋亡,最终导致小颅畸形<sup>[15~17]</sup>。ZIKV 除了能感染中枢神经系统外,同时也能感染外周神经系统,引起外周神经元死亡<sup>[18]</sup>。除了神经元,神经胶质细胞在大脑发育过程中也起着重要的作用。在哺乳动物大脑中,约有 50%~90% 的细胞是由除神经元以外的胶质细胞构成<sup>[19]</sup>。本课题组研究发现 ZIKV 也能感染胶质前体细胞,抑制少突胶质细胞前体细胞(oligodendrocyte precursor cells, OPCs)的增殖和分化,阻碍少突胶质细胞的形成和髓鞘化<sup>[20]</sup>。

ZIKV 感染导致小颅畸形的分子机制十分复杂。本课题组通过对不同时期 ZIKV 感染的小鼠(*Mus musculus*)模型大脑进行转录组分析,结果表明 ZIKV 感染神经干细胞后,能导致多个 MCPH 基因(*Aspm*、*Kn1l*、*Cenpf*、*Stil* 和 *Cep152* 等)表达量明显下调<sup>[16,21]</sup>。一些在大脑发育过程中起重要调节作用的 miRNA 的表达也发生了变化。ZIKV 感染小鼠胚胎大脑皮层后会导致 miR-9 上调,导致胶质细胞源性神经营养因子基因 *Gdnf* 表达下调。在小鼠大脑中上调 miR-9 可以引起神经前体细胞凋亡,抑制神经发生,最终导致小颅畸形,而胶质细胞源性神经营养因子作为 miR-9 的目标分子,可以拮抗 miR-9 引起的神经前体细胞凋亡<sup>[22]</sup>。有证据表明,ZIKV 非结构蛋白 NS4A、NS4B 和 NS2A 能抑制神经前体细胞增殖,其中 NS2A 能与细胞的多种黏着复合体成员相互作用,使细胞黏着复合体降解,导致放射状胶质细胞(RGCs)增殖减少,提前分化<sup>[23,24]</sup>。而位于病毒前膜蛋白(prM)上的 S139N 突变能显著增强 ZIKV 的毒性<sup>[25]</sup>,这个发现可以很好地解释为什么 ZIKV 委内瑞拉株(VEN/2016)比柬埔寨株(CAM/2010)具有更强的神经毒性,造成更严重的小颅畸形表型<sup>[25,26]</sup>。全基因组表达分析和功能验证进一步证实,ZIKV 在大脑发育的早期和晚期阶段分别更倾向于靶向 NPCs 和 OPCs,并激活先天免疫反应,这导致与细胞周期、神经发生、少突胶质细胞生成和细胞凋亡相关的基因网络失调,细胞死亡增加,细胞周期进展中断,NPCs 与 OPCs 过早分化和增殖减少<sup>[27]</sup>。另一方面,ZIKV 感染神经胶质细胞,包括星形胶质细胞(astrocyte)和小胶质细胞(microglial cell),导致它们的激活,造成强烈的免疫反应(炎症),并分泌大量的免疫因子<sup>[27]</sup>。免疫因子作用于 NPCs、OPCs、神经元和少突胶质细胞,导致神经发生受损,阻碍神经胶质细胞生成(特别是少突胶质细胞生成)和神经元髓鞘形成,并伴有大量神经元死亡,从而损害大脑发育并导致先天性寨卡综合征(congenital Zika syndrome, CZS),包括小颅畸形和其他严重的先天性神经系统并发症。

针对 ZIKV 感染引发的小颅畸形的治疗方法一直在不断尝试和改进。在小鼠模型中研究发现,小分子化合物 25-羟基胆固醇(25-HC)、氯喹(CQ)<sup>[28,29]</sup>,

人感染 ZIKV 后的恢复期血清<sup>[30]</sup>, 人源性单克隆抗体 ZK2B10 等<sup>[31]</sup>, 以及 ZIKV 包膜蛋白(E)肽段制成的疫苗 E90<sup>[32]</sup>, 均能很好地预防 ZIKV 的感染, 减轻小颅畸形表型。但对感染后期的胎鼠, 治疗效果却并不理想。

### 1.1.3 小颅畸形的相关基因及其功能

迄今为止已发现至少 25 个基因的突变会导致 MCPH, 根据它们发现的顺序分别命名为 MCPH1~MCPH25, 这些基因在各物种间高度保守<sup>[7,33]</sup>。其中 13 个基因(MCPH1~MCPH9、MCPH12~MCPH14 和 MCPH24)定位在中心体或纺锤体, 参与中心体的形成或与有丝分裂器的功能相关; 有 15 个基因在细胞核有分布, 其中 6 个基因(MCPH6、MCPH13、MCPH16、MCPH21~MCPH23)参与了染色质或染色体的凝聚和重构(图 3)。总的来说, 上述两类基因均参与了有丝分裂过程。而由编码纺锤体极蛋白的基因 *ASPM* 和 *WDR62* 的突变造成的 MCPH 最为常见, 分别占有 MCPH 的 68.6% 和 14.1%, 其次是

*MCPH1*, 占 8%<sup>[7]</sup>。

Microcephalin (*MCPH1*)是第一个被发现突变能导致 MCPH 的基因, 属于 PTCB (protein with twin carboxyl-terminal BRCT domains)蛋白家族<sup>[34]</sup>。*MCPH1* 编码一个 DNA 损伤应答蛋白, 能够调控细胞周期 G<sub>2</sub>/M 检查点激酶 *CHK1* 和同属 PTCB 蛋白家族的 *BRCA1* 的表达, 参与细胞内 DNA 损伤响应<sup>[33]</sup>。*MCPH1* 表达下调或突变, 会导致 *BRCA1* 和 *CHK1* 表达量下调和有丝分裂 G<sub>2</sub>/M 检查点失效, 进而引发细胞癌变<sup>[34]</sup>。在有丝分裂过程中, *MCPH1* 定位于中心体, 其突变被认为能导致神经前体细胞分裂异常, 从而造成小颅畸形<sup>[11]</sup>。

*WDR62* (*MCPH2*)全名为 WD40 结构域重复蛋白 62 (WD40-repeat protein 62), 其隐性突变会造成大范围严重的大脑功能异常, 包括小颅畸形、癫痫等<sup>[35]</sup>。本课题组研究发现在小鼠中 *WDR62* 能作为 JNK 信号通路上游的蛋白, 调控神经发生<sup>[10]</sup>。敲降或敲除 *Wdr62* 能引起纺锤体装配缺陷, 导致有丝分裂阻滞, 神经前体细胞过早分化, 并伴有细胞死亡<sup>[10]</sup>。

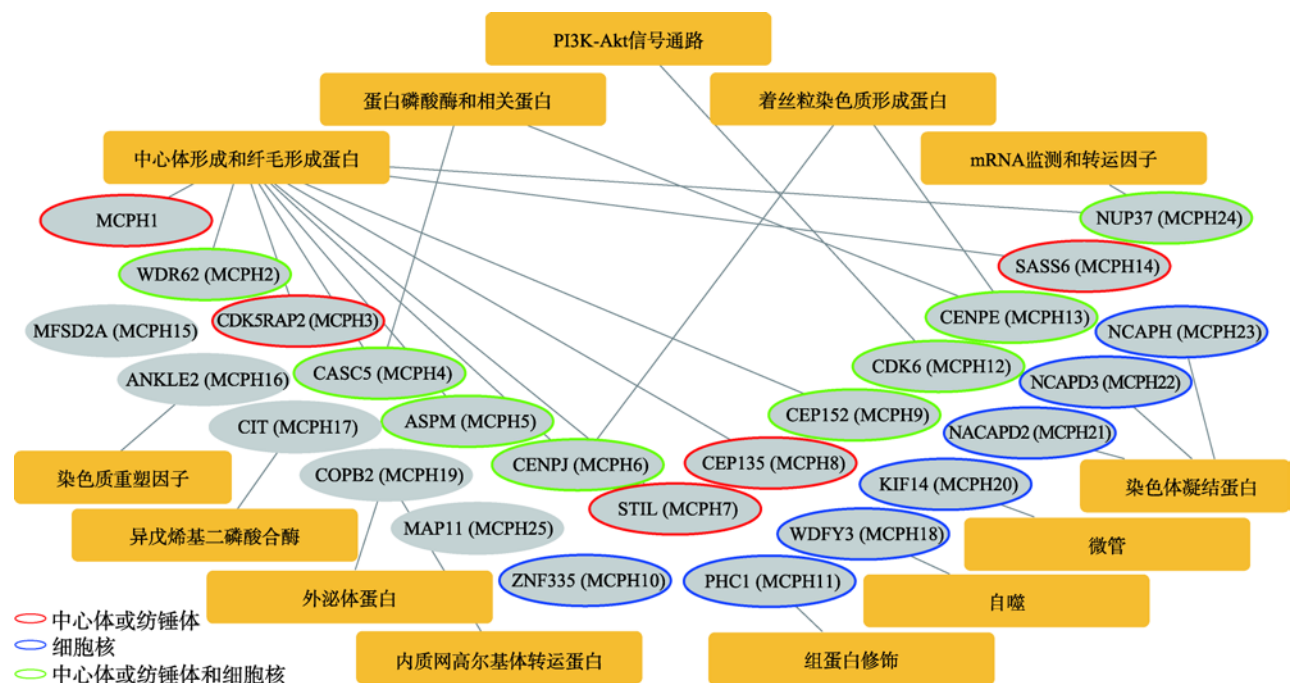


图3 MCPH 基因的功能归类

Fig. 3 Functional classification of MCPH genes

25 个 MCPH 基因的功能归类网络图。黄色方框：功能类别；灰色椭圆：基因。基因功能类别信息来自京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 数据库。亚细胞定位信息来自小鼠基因组信息 (Mouse Genome Informatics, MGI) 数据库。

进一步研究发现 WDR62 能与 MEKK3 形成复合体激活 JNK 信号通路, 调控神经发生<sup>[35]</sup>。而 JNK1 激活后又能磷酸化 WDR62 的 T1053 位点, 从而招募 FBW7 降解 WDR62<sup>[36]</sup>。这些研究发现促进了 WDR62 突变引发小颅畸形的致病机制研究。

ASPM (MCPH5) 也参与了纺锤体的形成和定向, 在有丝分裂过程中发挥作用。研究发现, *Aspm* 突变能引起小鼠轻度的小颅畸形, 但并没有明显地造成神经细胞的凋亡, 这暗示了 *Aspm* 能影响神经前体细胞的增殖。在大脑发育过程中, ASPM 能正向调控 Wnt 信号通路, 参与神经发生和神经元的迁移过程。在小鼠中, 敲降 *Aspm* 能导致 Wnt 信号通路调控的基因转录减少, 而表达稳定的  $\beta$ -catenin 能挽救其表型<sup>[37]</sup>。在雪貂 (*Mustela putorius furo*) 的大脑中, 敲除 ASPM 能导致其严重的小颅畸形表型 (大脑重量最多能减少近 40%)<sup>[38]</sup>。研究人员发现 ASPM 能调控室管膜层放射状胶质细胞 (ventricular radial glial cells, VRGs) 向亚室管膜层外侧放射状胶质细胞 (outer radial glial cells, ORGs) 转化发生的时期。敲除 ASPM 导致增殖能力强的 VRGs 过早地向增殖能力弱的 ORGs 转化。ORGs 对于雪貂和灵长类等哺乳动物大脑皮层的扩张至关重要, 而这群细胞在小鼠皮层发育过程中几乎是缺失的<sup>[38]</sup>。这就解释了为什么人类和雪貂大脑 ASPM 的缺失导致的小颅畸形表型比小鼠严重的多。

除了上述已经命名的 MCPH 基因, 还有其他基因突变也与小颅畸形相关, 如 *CEP63*<sup>[39]</sup>、编码细胞骨架蛋白的 *TUBA1A* 和 *TUBB3*<sup>[40]</sup>、编码 Rho 家族小 GTP 酶蛋白的 *RAC1*<sup>[41]</sup> 等。

## 1.2 其他代表性 MCPH 样综合征

### 1.2.1 塞克尔综合征 (Seckel syndrome)

塞克尔综合征又称为小颅畸形侏儒 I 型 (microcephalic dwarfism type I), 与 MCPH 类似, 也是一种常染色体隐性遗传病, 表现为小颅畸形、智力缺陷、身材矮小, 面部、牙齿和骨骼畸形。目前发现至少有 9 个基因 (*ATR*、*ATRIP*、*RBBP8*、*NIN*、*DNA2*、*CEP63*、*CEP152*、*CENPJ* 和 *CDK5RAP2*, 其中后 4 个基因与 MCPH 相关) 的隐性突变能导致塞克尔综合征<sup>[7,42]</sup>。*ATR* 是第一个被发现的塞克尔综合征基

因, 编码一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 主要参与 DNA 损伤应答的信号通路, 对有丝分裂过程中 DNA 的正常复制起着重要作用<sup>[43]</sup>。除此之外, *ATR* 还参与了细胞纤毛 (cilia) 的形成, 敲除 *ATR* 能导致纤毛长度变短, 对依赖纤毛的信号通路 (如生长因子信号通路和 Sonic hedgehog 信号通路) 的功能造成严重的影响<sup>[42]</sup>。因此, 塞克尔综合征可能是一种由胚胎发育过程中依赖纤毛的信号通路功能异常引起的生长发育异常疾病。

### 1.2.2 小颅畸形骨发育不良先天性侏儒 II 型 (microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type II, MOPD-II)

MOPD-II 是由中心粒周蛋白基因 *PCNT* 突变引起的一种常染色体隐性遗传病, 其造成的生长缺陷在怀孕早期 (12~14 周) 就能够被超声检测观察到, 随后缺陷逐渐加重, 病人表现为小颅畸形、智力和运动障碍、身材矮小、四肢异常短小、手指弯曲或短小、牙齿异常并对胰岛素耐受<sup>[7,44~46]</sup>。*PCNT* 是中心粒外周物质中一种主要的支架蛋白, 在有丝分裂过程中, *PCNT* 被 PLK1 磷酸化后能将多种调控蛋白和结构蛋白招募到中心体上, 帮助形成纺锤体。在细胞退出有丝分裂过程中, 磷酸化的 *PCNT* 被分离酶切割, 中心体的两个中心粒相互分离, 为下一次有丝分裂做准备<sup>[47,48]</sup>。缺失 *PCNT*, 细胞在有丝分裂时中心粒会过早分离和复制, 但是这些中心粒无法形成中心体, 导致细胞无法形成正常的双极纺锤体, 有丝分裂不能正常进行<sup>[47]</sup>。*PCNT* 还与 MCPH1、CDK5RAP2 等多种 MCPH 蛋白互作, 这可能也是为什么 MOPD-II 与 MCPH 有很多共同之处<sup>[7]</sup>。

## 2 神经精神疾病

相比于大脑皮层发育畸形, 神经精神疾病的发生更为复杂, 以至于人们无法单一地采用大脑结构缺陷特征来分类, 而是通过不同功能障碍组合的方式来区分。儿童期常见的精神障碍有孤独症谱系障碍、注意缺陷多动障碍 (attention deficit hyperactivity disorder, ADHD)、智力障碍 (intellectual disability, ID)、Rett 综合征 (Rett syndrome, RTT)、脆性 X 染色体综

合征(fragile X syndrome, FXS)、结节性硬化综合征(tuberous sclerosis complex, TSC)等。

## 2.1 孤独症谱系障碍

ASD 是根据典型孤独症即自闭症(autism)的核心症状进行扩展而定义的广义孤独症,患者主要表现为认知障碍、社交和交流能力缺陷和重复刻板行为,是一种复杂的神经心理(neuropsychological)和行为缺陷。据 CDC 统计,在 8 岁的儿童中 ASD 的发病率从 2012 年的 1/110 上升到 2014 年的 1/59<sup>[49,50]</sup>,而男性与女性的比率大约为 5:1<sup>[49]</sup>。

大部分 ASD 患者在出生后 1.5~2 年表现出临床症状,包括睡眠障碍、情绪低落和焦虑等<sup>[51]</sup>。在这个年龄段,相对于其他症状,睡眠障碍的表现最为突出,因此很多儿童起初是因为睡眠问题而被确诊为 ASD。此外,ASD 的某些症状在男孩和女孩上也有差别,男孩更多地表现为攻击性、高度活跃和重复刻板行为,而女孩则更多表现为焦虑、情绪低落和智力低下<sup>[52]</sup>。而另一些病人在出生的 2~3 年内各项发育显示基本正常,但之后认知、社交、交流以及自理能力逐渐退化,例如语言交流能力的丧失<sup>[53]</sup>。有趣的是,大约 10% 的 ASD 患者在某一方面,比如观察、艺术、计算或者学习记忆方面有着超乎常人的能力,因此这类情况也被称为“学者综合征”<sup>[49]</sup>。同时研究表明大约 25%~30% 的 ASD 儿童患有癫痫,且癫痫发作的频率比一般患者更高<sup>[49,54]</sup>。同时,约 30% 的癫痫患者也被诊断出 ASD<sup>[54]</sup>。

此外,多种疾病也会在不同程度上表现出 ASD 的相关症状,例如由 *MECP2* 突变引起的 Rett 综合征,由 *TSC1* 或 *TSC2* 突变引起的结节性硬化综合征(tuberous sclerosis complex, TSC),由 *FMR1* 突变引起的脆性 X 染色体综合征等<sup>[3]</sup>。

### 2.1.1 ASD 的成因及发病机制

ASD 的成因复杂,有高度的遗传性。研究发现同卵双胞胎有一个儿童患有 ASD,则另一个患 ASD 的概率高达 36%~95%<sup>[50]</sup>。在过去的几十年中,外显子组测序和全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)在鉴定 ASD 风险基因上发挥了重要的作用,包括新生突变(*de novo* mutations)、遗

传变异(inherited variants)、拷贝数变异(copy number variants)和基因组结构变异(genomic structural variants)<sup>[5,55,56]</sup>。据估计,大约有 1000 个基因的突变可能与 ASD 相关<sup>[3,55]</sup>。这些基因往往在一个复杂的基因调控网络中共同发挥作用,而由单一基因突变引发的 ASD 比例不超过 5%。

除了遗传因素以外,ASD 的发生同时还可能受到发育早期诸多环境因素的影响,如汞污染、辐射污染和有毒气体污染等<sup>[49]</sup>。孕妇产前感染(免疫反应)、糖尿病、缺锌、孕期及围产期的心理压力、药物使用、毒素暴露等也是导致 ASD 的高风险因素<sup>[57]</sup>。这些环境风险因素通过增强已存在的遗传易感性,从而增加了 ASD 发生的危险性。不同的环境因素对个体不同遗传背景产生的易感性的作用是不同的,这可能是 ASD 患者表现出的症状不尽相同的原因。

关于 ASD 的发病机制,目前还没有统一的定论。目前大多数 ASD 相关基因被发现参与了神经元细胞骨架的形成、神经元轴突的投射和突触的形成<sup>[58]</sup>,而这些生物学过程最终决定着大脑的结构和神经环路的连接。神经影像学研究发现 ASD 儿童大脑的内部连接存在异常<sup>[59,60]</sup>,前额叶和颞叶区域的神经元与其他脑区的功能性连接减少<sup>[61]</sup>。大脑胼胝体(corpus callosum)发育不全在 ASD 患者中也被发现<sup>[62,63]</sup>,胼胝体是连接着大脑左右半球神经纤维,在大脑半球之间的感觉、运动和意识信息的传递方面起着重要作用。除了不同脑区功能性连接异常外,神经元兴奋性-抑制性平衡(excitatory/inhibitory balance)受影响也被认为是 ASD 发病的可能原因<sup>[3,54]</sup>。

### 2.1.2 ASD 的相关基因及其功能

与 ASD 相关的基因种类繁多,同一个基因往往参与大脑发育的多个过程,在不同的信号途径和生物学过程中发挥作用,这也是为什么 ASD 常伴随着其他综合征发生的原因之一。2016 年, Caitlin 等<sup>[54]</sup>总结了 ASD 相关基因,根据它们的功能分成了细胞核信号传递(signaling to the nucleus)、局部调控(local regulation)、感受器(sensors)、兴奋性-抑制性协调(E:I coordination)、结构组成(structural)和发育(development)等 6 大类,并给出了每个基因的可信度评



参与调控 Wnt- $\beta$ -catenin 信号通路。*CHD8* 的单倍剂量不足能导致 *REST* 基因过度激活, 从而抑制多种神经相关基因的表达<sup>[69]</sup>。在小鼠中敲降 *Chd8* 能导致神经元迁移延迟, 神经元树突复杂性降低, 同时小鼠表现出 ASD 表型<sup>[68,69]</sup>。除此之外, *CHD8* 的单倍剂量不足或功能缺失还与发育延迟、智力障碍、肠胃障碍、睡眠障碍和巨头畸形等疾病相关<sup>[70]</sup>。

*SHANK3* 也被称为 *PROSAP2*, 是 SHANK 蛋白家族的成员之一(另外两个为 *SHANK1* 和 *SHANK2*, 其中 *SHANK2* 的功能缺失也与 ASD 高度相关)。SHANK3 是一种定位于兴奋性突触的突触后致密区(PSD)的支架蛋白, 能与 PSD 中的多种受体蛋白、信号分子、细胞骨架蛋白相互作用, 调控树突棘的形成和结构<sup>[71]</sup>。有研究表明 *SHANK3* 的单倍剂量不足能导致个体的语言和交流障碍, 造成 ASD<sup>[72~74]</sup>。*SHANK3* 不同形式的突变可能导致多种不同的神经发育异常疾病, 包括智力障碍、发育迟缓、精神分裂症和 Rett 综合征, 而在 1% 的 ASD 患者中, 该基因多种不同形式的突变被发现<sup>[74,75]</sup>。有研究组利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术通过干扰 *SHANK3* 的表达, 在食蟹猴(*Macaca fascicularis*)中成功敲除了该基因, 建立了 *SHANK3* 缺失导致 ASD 的非人灵长类动物模型<sup>[73,75]</sup>。

*PTCHD1* (patched domain containing 1) 定位于 X 染色体, 编码一个含有固醇敏感多肽区的 12 次跨膜蛋白, 猜测其可能是一种 Sonic hedgehog 受体<sup>[49,66]</sup>。对 ASD 家系的研究发现了多个不同的 *PTCHD1* 基因片段的微缺失和无义突变。一项调查研究表明, 在 23 个 *PTCHD1* 突变的个体中, 超过 40% 的人体患有 ASD 或表现出 ASD 样行为<sup>[76]</sup>。*Ptchd1* 突变小鼠表现出注意障碍性多动症(attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD)样行为、强烈的攻击性和条件恐惧反射缺陷, 并且在抑制性神经元中条件敲除 *Ptchd1* 也能表现出 ADHD 样行为, 这暗示了 *Ptchd1* 参与了神经环路的兴奋性-抑制性平衡<sup>[65]</sup>。*Ptchd1* 在小鼠大脑的海马齿状回细胞中高表达, 敲除 *Ptchd1* 能导致海马齿状回兴奋性-抑制性失衡, 但对神经元的突触结构和神经前体细胞的增殖没有明显的影响<sup>[77]</sup>。

本课题组研究发现 POSH 蛋白家族成员 *SH3RF2* 也与 ASD 相关。2012 年台湾的一个研究小组在一位

患有 ASD 男孩的 5 号染色体 5q32 的位置, 发现一段遗传自父亲(有轻微 ASD 症状)的染色体微缺失, 这段微缺失包含了 13 个已知基因, *SH3RF2* 是其中之一<sup>[77]</sup>。我们实验室构建了 *Sh3rf2* 单拷贝缺失小鼠, 该小鼠表现出明显的社交互动和交流障碍、重复刻板行为, 并伴有多动和癫痫等 ASD 症状。进一步研究发现, *Sh3rf2* 单拷贝缺失小鼠大脑海马树突棘发育存在缺陷, 谷氨酸能受体亚基组成异常和兴奋性突触传递异常。值得注意的是, 这些缺陷选择性地发生在单侧大脑, 与临床患儿功能磁共振结果相吻合, 即 ASD 患儿存在左半球脑功能障碍。该研究首次证实 *Sh3rf2* 单拷贝缺失是 ASD 的一种高风险因子, 甚至是致病基因, 其突变导致疾病的发病机制很可能是由于左半球突触功能缺陷引起的<sup>[79]</sup>。

此外, 在一项包含 32 个 ASD 中国患者的 3 人组 GWSAs 研究中, 3 个 MCPH 基因(*ASPM*、*WDR62* 和 *ZNF335*)的罕见突变频繁出现。而且在其中的 14 个患者中发现了另外 12 个小颅畸形相关基因的突变<sup>[5]</sup>。该结果提示, 与小颅畸形等大脑皮层发育畸形疾病相关的调控网络在 ASD 的发病机制上也可能发挥着重要作用。

## 2.2 其他代表性 ASD 样综合征

### 2.2.1 Rett 综合征(Rett syndrome, RTT)

RTT 是一种主要由 *MECP2* (methyl CpG binding protein 2) 突变引起的 X 染色体连锁的大脑神经发育疾病。患者主要为女孩, 出生 6~18 个月后发育停滞, 头围增长缓慢, 表现出严重的认知和运动障碍, 并伴有 ASD 样行为<sup>[80]</sup>。临床数据显示 *MECP2* 突变有 70%~80% 的几率导致 RTT<sup>[81]</sup>。*MECP2* 属于甲基化结合结构域(methyl binding domain, MBD)蛋白家族, 编码甲基化 CpG 的结合蛋白, 在脑组织中广泛表达<sup>[80]</sup>。在神经细胞中, *MECP2* 能通过与甲基化的 DNA 结合与各种转录调控因子相互作用, 调控下游基因表达。在少突胶质细胞中, *MECP2* 能直接与髓鞘相关基因 *MBP* 和 *PLP* 的启动子区域结合, 抑制其表达<sup>[82]</sup>。另外 *MECP2* 能直接与 miRNA 加工复合体成员 *DGCR8* 结合, 抑制相关 miRNA (这些 miRNA 的靶基因包括在神经发育过程中起重要作用的 *CREB*、

*LIMK1* 和 *PUM2* 等)的表达<sup>[83]</sup>。由此猜测, *MECP2* 突变导致原本受其调控的神经发育相关基因的表达紊乱,进而引发 RTT。除了 *MECP2* 突变, *CDKL5*、*FOXG1*、*MEF2C* 和 *TCF4* 等基因的突变也与 RTT 相关<sup>[80,84]</sup>。

### 2.2.2 脆性 X 染色体综合征(fragile X syndrome, FXS)

FXS 是由基因 *FMRI*(fragile X mental retardation 1)的功能缺失引起的一类最常见的遗传性智力障碍疾病,主要表现为中度到重度的智力低下,同时表现出 ASD 的相关症状,如重复刻板行为,交流障碍和睡眠障碍,因此也常被列为 ASD 中的一种。*FMRI* 编码蛋白 FMRP 作为 RNA 结合蛋白,在功能上高度保守,在不同的组织中广泛表达,其中脑和生殖腺表达量最高<sup>[85]</sup>。FMRP 能够与大量的神经发育、神经元树突及树突棘构建和突触可塑性相关基因的 mRNA 直接结合并调控它们的细胞定位、稳定性以及蛋白翻译<sup>[86]</sup>。除了与 mRNA 结合, FMRP 还能和小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)、miRNA、与 Piwi 蛋白相互作用的 RNA(Piwi-interacting RNA, piRNA)以及长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)这 4 类非编码 RNA 结合,调控其功能<sup>[85]</sup>。有研究表明 FMRP 能与 *TUG1* 转录的长链非编码 RNA(lncRNA)直接结合并负向调控其含量,而 *TUG1* 能够特异性调控神经元轴突发育<sup>[86]</sup>。目前关于 *FMRI* 突变导致 FXS 的发病机制仍然不清楚,有待进一步研究。

### 2.2.3 结节性硬化综合征(tuberous sclerosis complex, TSC)

TSC 是由 *TSC1* 或 *TSC2* 杂合突变引起的一种常染色体显性遗传的神经皮肤综合征,可发生在任何年龄,并且多个器官和系统受到影响<sup>[87,88]</sup>。通常该病在婴幼儿和儿童时期得到确诊,表现为皮肤损伤、癫痫和心脏、大脑、肾脏等器官出现错构瘤。患者的长时程记忆和工作记忆受损,有智力和认知障碍,并且 30%~40% 的患者同时患有 ASD<sup>[3]</sup>。*TSC1* 和 *TSC2* 分别编码错构瘤蛋白(hamartin)和薯球蛋白(tuberin),在正常的组织器官中广泛表达。*TSC1* 和

*TSC2* 通过形成蛋白复合体,抑制参与调节细胞生长、增殖和体积的 mTOR 信号通路<sup>[54]</sup>。该蛋白复合体中的一个蛋白发生突变,就可能导致 mTOR 信号通路过度激活,细胞增殖、分化和迁移紊乱,组织过度生长,引发 TSC。因此,目前主要采用 mTOR 信号通路的抑制剂来治疗 TSC。

## 3 结语与展望

相对而言,两类脑发育疾病中大脑皮层发育畸形比神经精神疾病有更明显的临床症状,包括大脑形态的改变、大脑功能障碍、生长发育迟缓甚至体形的改变。大脑皮层发育畸形的致病基因更多定位于细胞核和中心体,参与染色质重塑、基因表达调控和有丝分裂等最为基本和重要的生物学过程。而神经精神疾病的致病基因除了参与上述过程外,还有一类是定位于神经元的突触,与突触形成、突触可塑性、神经递质受体和离子通道的功能相关。这也是为什么很多神经精神疾病的患者大脑形态没有明显的改变。

因此,两类脑发育疾病的划分只是针对我们对疾病的认识角度或层面不同而言的,随着对它们的认识不断加深,这样的划分也许并不合适。大脑形态结构的改变势必会影响其功能(除个别案例),而功能的异常则是以结构形态的改变为基础的,不论是在细胞水平、神经环路水平,还是大脑整体结构水平。认识脑发育疾病,离不开对大脑发育过程和各脑区和核团功能的理解和解析。

近年来,神经科学领域发展迅速。随着高通量测序技术的发展,特别是单细胞测序技术在神经科学领域的应用,极大的促进了我们对大脑发育过程中神经细胞的种类和功能认识,同时高通量测序提供的基因表达图谱能帮助我们理解众多的神经发育相关基因之间是如何协同合作、共同调控神经发育的<sup>[89-91]</sup>。基于病毒载体的神经环路示踪技术可以高效地标记脑区间的神经投射,对大脑神经网络结构的解析提供了极大的便利。光遗传(optogenetics)和化学遗传(designer receptors exclusively activated by designer drugs, DREADDs)技术可以人为地激活或抑制特定的脑区和神经环路,帮助人们在神经环

路水平理解大脑是如何调控个体的学习、记忆、社交等行为。此外, 各种离子和神经递质的荧光探针的发明, 如钙离子荧光探针(GCaMP)、乙酰胆碱荧光探针、多巴胺荧光探针, 结合活体成像技术, 可以实时地活体监测个体大脑神经元的活动, 这为揭示脑发育疾病特别是神经精神疾病的发病机制提供了新的途径<sup>[92~94]</sup>。

目前针对这些大脑发育相关疾病, 并没有有效的治疗手段。绝大多数与脑发育疾病相关的致病基因目前尚未明了或确认。相关疾病基因操作动物模型的构建, 是确认致病基因并探究发病机制和治疗手段所必需的。基因编辑技术的发展, 极大地促进了小鼠、大鼠(*Rattus norvegicus*)、家猪(*Sus scrofa*)和非人灵长类动物模型建立, 为未来攻克脑发育疾病的难题(诊断和治疗)提供了重要基础<sup>[95]</sup>。

## 参考文献(References):

- [1] Devakumar D, Bamford A, Ferreira MU, Broad J, Rosch RE, Groce N, Breuer J, Cardoso MA, Copp AJ, Alexandre P, Rodrigues LC, Abubakar I. Infectious causes of microcephaly: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and management. *Lancet Infect Dis*, 2018, 18(1): e1–e13. [DOI]
- [2] Ayala R, Shu T, Tsai LH. Trekking across the brain: the journey of neuronal migration. *Cell*, 2007, 128(1): 29–43. [DOI]
- [3] Bagni C, Zukin RS. A synaptic perspective of fragile X syndrome and autism spectrum disorders. *Neuron*, 2019, 101(6): 1070–1088. [DOI]
- [4] Guerrini R, Dobyns WB. Malformations of cortical development: clinical features and genetic causes. *Lancet Neurol*, 2014, 13(7): 710–726. [DOI]
- [5] Wu J, Yu P, Jin X, Xu X, Li J, Li Z, Wang M, Wang T, Wu X, Jiang Y, Cai W, Mei J, Min Q, Xu Q, Zhou B, Guo H, Wang P, Zhou W, Hu Z, Li Y, Cai T, Wang Y, Xia K, Jiang YH, Sun ZS. Genomic landscapes of Chinese sporadic autism spectrum disorders revealed by whole-genome sequencing. *J Genet Genomics*, 2018, 45(10): 527–538. [DOI]
- [6] Lerman-Sagie T, Leibovitz Z. Malformations of cortical development: from postnatal to fetal imaging. *Can J Neurol Sci*, 2016, 43(5): 611–618. [DOI]
- [7] Zaqout S, Morris-Rosendahl D, Kaindl AM. Autosomal recessive primary microcephaly (MCPH): an update. *Neuropediatrics*, 2017, 48(3): 135–142. [DOI]
- [8] Woods CG, Basto R. Microcephaly. *Curr Biol*, 2014, 24(23): R1109–1111. [DOI]
- [9] Mahmood S, Ahmad W, Hassan MJ. Autosomal recessive primary microcephaly (MCPH): clinical manifestations, genetic heterogeneity and mutation continuum. *Orphanet J Rare Dis*, 2011, 6: 39. [DOI]
- [10] Xu D, Zhang F, Wang Y, Sun Y, Xu Z. Microcephaly-Associated protein WDR62 regulates neurogenesis through JNK1 in the developing neocortex. *Cell Rep*, 2014, 6(6): 1176–1177. [DOI]
- [11] Zhong X, Pfeifer GP, Xu X. Microcephalin encodes a centrosomal protein. *Cell Cycle*, 2006, 5(4): 457–458. [DOI]
- [12] Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, Kolenc M, Resman Rus K, Vesnaver Vipotnik T, Fabjan Vodusek V, Vizjak A, Pižem J, Petrovec M, Avšič Županc T. Zika virus associated with microcephaly. *New Engl J Med*, 2016, 374(10): 951–958. [DOI]
- [13] D'Ortenzio E, Matheron S, Yazdanpanah Y, de Lamballerie X, Hubert B, Piorkowski G, Maquart M, Descamps D, Damond F, Leparac-Goffart I. Evidence of sexual transmission of Zika virus. *New Engl J Med*, 2016, 374(22): 2195–2198. [DOI]
- [14] Deng YQ, Zhang NN, Li XF, Wang YQ, Tian M, Qiu YF, Fan JW, Hao JN, Huang XY, Dong HL, Fan H, Wang YG, Zhang FC, Tong YG, Xu Z, Qin CF. Intranasal infection and contact transmission of Zika virus in guinea pigs. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1648. [DOI]
- [15] Tang H, Hammack C, Ogden SC, Wen Z, Qian X, Li Y, Yao B, Shin J, Zhang F, Lee EM, Christian KM, Didier RA, Jin P, Song H, Ming GL. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. *Cell Stem Cell*, 2016, 18(5): 587–590. [DOI]
- [16] Li C, Xu D, Ye Q, Hong S, Jiang Y, Liu X, Zhang N, Shi L, Qin CF, Xu Z. Zika virus disrupts neural progenitor development and leads to microcephaly in mice. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(1): 120–126. [DOI]
- [17] Calvet G, Aguiar RS, Melo ASO, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A, Araujo ESM, de Sequeira PC, de Mendonça MCL, de Oliveira L, Tschoeke DA, Schrago CG, Thompson FL, Brasil P, Dos Santos FB, Nogueira RMR, Tanuri A, de Filippis AMB. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis*, 2016, 16(6): 653–660. [DOI]
- [18] Oh Y, Zhang F, Wang Y, Lee EM, Choi IY, Lim H, Mirakhori F, Li R, Huang L, Xu T, Wu H, Li C, Qin CF, Wen Z, Wu QF, Tang H, Xu Z, Jin P, Song H, Ming GL, Lee G. Zika virus directly infects peripheral neurons and induces cell death. *Nat Neurosci*, 2017, 20(9): 1209–1212. [DOI]
- [19] Zuchero JB, Barres BA. Glia in mammalian development and disease. *Development*, 2015, 142(22): 3805–3809. [DOI]

- [20] Li C, Wang Q, Jiang Y, Ye Q, Xu D, Gao F, Xu JW, Wang R, Zhu X, Shi L, Yu L, Zhang F, Guo W, Zhang L, Qin CF, Xu Z. Disruption of glial cell development by Zika virus contributes to severe microcephalic newborn mice. *Cell Discov*, 2018, 4: 43. [DOI]
- [21] Wu KY, Zuo GL, Li XF, Ye Q, Deng YQ, Huang XY, Cao WC, Qin CF, Luo ZG. Vertical transmission of Zika virus targeting the radial glial cells affects cortex development of offspring mice. *Cell Res*, 2016, 26(6): 645–654. [DOI]
- [22] Zhang H, Chang Y, Zhang L, Kim SN, Otaegi G, Zhang Z, Nie Y, Mubarak T, Li C, Qin CF, Xu Z, Sun T. Upregulation of MicroRNA miR-9 is associated with microcephaly and Zika virus infection in mice. *Mol Neurobiol*, 2018, 56(6): 4072–4085. [DOI]
- [23] Yoon KJ, Song G, Qian X, Pan J, Xu D, Rho HS, Kim NS, Habela C, Zheng L, Jacob F, Zhang F, Lee EM, Huang WK, Ringeling FR, Vissers C, Li C, Yuan L, Kang K, Kim S, Yeo J, Cheng Y, Liu S, Wen Z, Qin CF, Wu Q, Christian KM, Tang H, Jin P, Xu Z, Qian J, Zhu H, Song H, Ming GL. Zika-Virus-Encoded NS2A disrupts mammalian cortical neurogenesis by degrading adherens junction proteins. *Cell Stem Cell*, 2017, 21(3): 349–358.e6. [DOI]
- [24] Liang Q, Luo Z, Zeng J, Chen W, Foo SS, Lee SA, Ge J, Wang S, Goldman SA, Zlokovic BV, Zhao Z, Jung JU. Zika virus NS4A and NS4B proteins deregulate Akt-mTOR signaling in human fetal neural stem cells to inhibit neurogenesis and induce autophagy. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(5): 663–671. [DOI]
- [25] Yuan L, Huang XY, Liu ZY, Zhang F, Zhu XL, Yu JY, Ji X, Xu YP, Li G, Li C, Wang HJ, Deng YQ, Wu M, Cheng ML, Ye Q, Xie DY, Li XF, Wang X, Shi W, Hu B, Shi PY, Xu Z, Qin CF. A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly. *Science*, 2017, 358(6365): 933–936. [DOI]
- [26] Zhang F, Wang HJ, Wang Q, Liu ZY, Yuan L, Huang XY, Li G, Ye Q, Yang H, Shi L, Deng YQ, Qin CF, Xu Z. American strain of Zika virus causes more severe microcephaly than an old asian strain in neonatal mice. *E Bio Medicine*, 2017, 25: 95–105. [DOI]
- [27] Xu D, Li C, Qin CF, Xu Z. Update on the animal models and underlying mechanisms for ZIKV-Induced microcephaly. *Annu Rev Virol*, 2019. [DOI]
- [28] Li C, Deng YQ, Wang S, Ma F, Aliyari R, Huang XY, Zhang NN, Watanabe M, Dong HL, Liu P, Li XF, Ye Q, Tian M, Hong S, Fan J, Zhao H, Li L, Vishlaghi N, Buth JE, Au C, Liu Y, Lu N, Du P, Qin FX, Zhang B, Gong D, Dai X, Sun R, Novitsch BG, Xu Z, Qin CF, Cheng G. 25-Hydroxycholesterol protects host against Zika virus infection and its associated microcephaly in a mouse model. *Immunity*, 2017, 46(3): 446–456. [DOI]
- [29] Li C, Zhu X, Ji X, Quanquin N, Deng YQ, Tian M, Aliyari R, Zuo X, Yuan L, Afridi SK, Li XF, Jung JU, Nielsen-Saines K, Qin FX, Qin CF, Xu Z, Cheng G. Chloroquine, a FDA-approved Drug, prevents zika virus infection and its associated congenital microcephaly in mice. *E Bio Medicine*, 2017, 24: 189–194. [DOI]
- [30] Wang S, Hong S, Deng YQ, Ye Q, Zhao LZ, Zhang FC, Qin CF, Xu Z. Transfer of convalescent serum to pregnant mice prevents Zika virus infection and microcephaly in offspring. *Cell Res*, 2017, 27(1): 158–160. [DOI]
- [31] Li C, Gao F, Yu L, Wang R, Jiang Y, Shi X, Yin C, Tang X, Zhang F, Xu Z, Zhang L. A single injection of human neutralizing antibody protects against Zika virus infection and microcephaly in developing mouse embryos. *Cell Rep*, 2018, 23(5): 1424–1434. [DOI]
- [32] Zhu X, Li C, Afridi SK, Zu S, Xu JW, Quanquin N, Yang H, Cheng G, Xu Z. E90 subunit vaccine protects mice from Zika virus infection and microcephaly. *Acta Neuropathol Com*, 2018, 6(1): 77. [DOI]
- [33] Wang YJ, Zhou XK, Xu D. Pathogenesis underlying autosomal recessive primary microcephaly. *Hereditas (Beijing)*, 2019, 40. 王玉杰, 周小坤, 徐丹. 常染色体隐性遗传小头畸形致病机制解析. *遗传*, 2019, 40. [DOI]
- [34] Xu X, Lee J, Stern DF. Microcephalin is a DNA damage response protein involved in regulation of CHK1 and BRCA1. *J Biol Chem*, 2004, 279(33): 34091–34094. [DOI]
- [35] Bilgüvar K, Oztürk AK, Louvi A, Kwan KY, Choi M, Tatli B, Yalnizoglu D, Tüysüz B, Çağlayan AO, Gökben S, Kaymakçalan H, Barak T, Bakircioğlu M, Yasuno K, Ho W, Sanders S, Zhu Y, Yilmaz S, Dinçer A, Johnson MH, Bronen RA, Koçer N, Per H, Mane S, Pamir MN, Yalçinkaya C, Kumandaş S, Topçu M, Özmen M, Sestan N, Lifton RP, State MW, Günel M. Whole-exome sequencing identifies recessive WDR62 mutations in severe brain malformations. *Nature*, 2010, 467(7312): 207–210. [DOI]
- [36] Xu D, Yao M, Wang Y, Yuan L, Hoeck JD, Yu J, Liu L, Yeap YYC, Zhang W, Zhang F, Feng Y, Ma T, Wang Y, Ng DCH, Niu X, Su B, Behrens A, Xu Z. MEKK3 coordinates with FBW7 to regulate WDR62 stability and neurogenesis. *PLoS Biol*, 2018, 16(12): e2006613. [DOI]
- [37] Buchman JJ, Durak O, Tsai LH. ASPM regulates Wnt signaling pathway activity in the developing brain. *Genes Dev*, 2011, 25(18): 1909–1914. [DOI]
- [38] Johnson MB, Sun X, Kodani A, Borges-Monroy R, Girsakis KM, Ryu SC, Wang PP, Patel K, Gonzalez DM, Woo YM, Yan Z, Liang B, Smith RS, Chatterjee M, Coman D, Papademetris X, Staib LH, Hyder F, Mandeville JB, Grant

- PE, Im K, Kwak H, Engelhardt JF, Walsh CA, Bae BI. Aspm knockout ferret reveals an evolutionary mechanism governing cerebral cortical size. *Nature*, 2018, 556(7701): 370–375. [DOI]
- [39] Marjanović M, Sánchez-Huertas C, Terré B, Gómez R, Scheel JF, Pacheco S, Knobel PA, Martínez-Marchal A, Aivio S, Palenzuela L, Wolfrum U, McKinnon PJ, Suja JA, Roig I, Costanzo V, Lüders J, Stracker TH. CEP63 deficiency promotes p53-dependent microcephaly and reveals a role for the centrosome in meiotic recombination. *Nat Commun*, 2015, 6: 7676. [DOI]
- [40] Parrini E, Conti V, Dobyns WB, Guerrini R. Genetic basis of brain malformations. *Mol Syndromol*, 2016, 7(4): 220–233. [DOI]
- [41] Reijnders MRF, Ansor NM, Kousi M, Yue WW, Tan PL, Clarkson K, Clayton-Smith J, Corning K, Jones JR, Lam WWK, Mancini GMS, Marcelis C, Mohammed S, Pfundt R, Roifman M, Cohn R, Chitayat D, Deciphering Developmental Disorders Study, Millard TH, Katsanis N, Brunner HG, Banka S. RAC1 missense mutations in developmental disorders with diverse Phenotypes. *Am J Hum Genet*, 2017, 101(3): 466–477. [DOI]
- [42] Yigit G, Brown KE, Kayserili H, Pohl E, Caliebe A, Zahnleiter D, Rosser E, Bögershausen N, Uyguner ZO, Altunoglu U, Nürnberg G, Nürnberg P, Rauch A, Li Y, Thiel CT, Wollnik B. Mutations in CDK5RAP2 cause Seckel syndrome. *Mol Genet Genomic Med*, 2015, 3(5): 467–480. [DOI]
- [43] O'Driscoll M, Ruiz-Perez VL, Woods CG, Jeggo PA, Goodship JA. A splicing mutation affecting expression of ataxia-telangiectasia and Rad3-related protein (ATR) results in seckel syndrome. *Nat Genet*, 2003, 33(4): 497–501. [DOI]
- [44] Bober MB, Jackson AP. Microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism, Type II: a clinical review. *Curr Osteoporos Rep*, 2017, 15(2): 61–69. [DOI]
- [45] Rauch A, Thiel CT, Schindler D, Wick U, Crow YJ, Ekici AB, van Essen AJ, Goecke TO, Al-Gazali L, Chrzanowska KH, Zweier C, Brunner HG, Becker K, Curry CJ, Dallapiccola B, Devriendt K, Dörfler A, Kinning E, Megarbane A, Meinecke P, Semple RK, Spranger S, Toutain A, Trembath RC, Voss E, Wilson L, Hennekam R, de Zegher F, Dörr HG, Reis A. Mutations in the pericentrin (PCNT) gene cause primordial dwarfism. *Science*, 2008, 319(5864): 816–819. [DOI]
- [46] Griffith E, Walker S, Martin CA, Vagnarelli P, Stiff T, Vernay B, Al Sanna N, Saggar A, Hamel B, Earnshaw WC, Jeggo PA, Jackson AP, O'Driscoll M. Mutations in pericentrin cause Seckel syndrome with defective ATR-dependent DNA damage signaling. *Nat Genet*, 2008, 40(2): 232–236. [DOI]
- [47] Kim J, Kim J, Rhee K. PCNT is critical for the association and conversion of centrioles to centrosomes during mitosis. *J Cell Sci*, 2019, 132(6): jcs225789. [DOI]
- [48] Kim J, Lee K, Rhee K. PLK1 regulation of PCNT cleavage ensures fidelity of centriole separation during mitotic exit. *Nat Commun*, 2015, 6: 10076. [DOI]
- [49] Bhat S, Acharya UR, Adeli H, Bairy GM, Adeli A. Autism: cause factors, early diagnosis and therapies. *Rev Neurosci*, 2014, 25(6): 841–850. [DOI]
- [50] Baio J, Wiggins L, Christensen DL, Maenner MJ, Daniels J, Warren Z, Kurzius-Spencer M, Zahorodny W, Robinson Rosenberg C, White T, Durkin MS, Imm P, Nikolaou L, Yeargin-Allsopp M, Lee LC, Harrington R, Lopez M, Fitzgerald RT, Hewitt A, Pettygrove S, Constantino JN, Vehorn A, Shenouda J, Hall-Lande J, van Naarden Braun K, Dowling NF. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 Sites, United States, 2014. *MMWR Surveill Summ*, 2018, 67(6): 1–23. [DOI]
- [51] Belmonte MK, Allen G, Beckel-Mitchener A, Boulanger LM, Carper RA, Webb SJ. Autism and abnormal development of brain connectivity. *J Neurosci*, 2004, 24(42): 9228–9231. [DOI]
- [52] Jeste SS, Geschwind DH. Disentangling the heterogeneity of autism spectrum disorder through genetic findings. *Nat Rev Neurol*, 2014, 10(2): 74–81. [DOI]
- [53] Werner E, Dawson G, Munson J, Osterling J. Variation in early developmental course in autism and its relation with behavioral outcome at 3–4 years of age. *J Autism Dev Disord*, 2005, 35(3): 337–350. [DOI]
- [54] Mullins C, Fishell G, Tsien RW. Unifying views of autism spectrum disorders: a consideration of autoregulatory feedback loops. *Neuron*, 2016, 89(6): 1131–1156. [DOI]
- [55] Ramaswami G, Geschwind DH. Genetics of autism spectrum disorder. *Handb Clin Neurol*, 2018, 147: 321–329. [DOI]
- [56] Guo H, Peng Y, Hu Z, Li Y, Xun G, Ou J, Sun L, Xiong Z, Liu Y, Wang T, Chen J, Xia L, Bai T, Shen Y, Tian Q, Hu Y, Shen L, Zhao R, Zhang X, Zhang F, Zhao J, Zou X, Xia K. Genome-wide copy number variation analysis in a Chinese autism spectrum disorder cohort. *Sci Rep*, 2017, 7: 44155. [DOI]
- [57] Park HR, Lee JM, Moon HE, Lee DS, Kim BN, Kim J, Kim DG, Paek SH. A short review on the current understanding of autism spectrum disorders. *Exp Neurobiol*, 2016, 25(1): 1–13. [DOI]
- [58] Gilman SR, Iossifov I, Levy D, Ronemus M, Wigler M, Vitkup D. Rare de novo variants associated with autism implicate a large functional network of genes involved in formation and function of synapses. *Neuron*, 2011, 70(5): 1–13. [DOI]

- 898–907. [DOI]
- [59] Baribeau DA, Anagnostou E. A comparison of neuroimaging findings in childhood onset schizophrenia and autism spectrum disorder: a review of the literature. *Front Psychiatry*, 2013, 4: 175. [DOI]
- [60] Huang MX, Liu XH, Zhang ZJ, Chen C, Wang D, Hou X, Chen H, Xia K. Functional connection between the stereotyped behavior and the motor front area in children with autism. *Br J Neurosurg*, 2018: 1–4. [DOI]
- [61] Tysza JM, Kennedy DP, Paul LK, Adolphs R. Largely typical patterns of resting-state functional connectivity in high-functioning adults with autism. *Cereb Cortex*, 2014, 24(7): 1894–1905. [DOI]
- [62] He Q, Duan Y, Karsch K, Miles J. Detecting corpus callosum abnormalities in autism based on anatomical landmarks. *Psychiatry Res*, 2010, 183(2): 126–132. [DOI]
- [63] Booth R, Wallace GL, Happé F. Connectivity and the corpus callosum in autism spectrum conditions: insights from comparison of autism and callosal agenesis. *Prog Brain Res*, 2011, 189: 303–317. [DOI]
- [64] Zhao H, Zhang YC, Zhang YQ. Recent progresses in molecular genetics of autism spectrum disorders. *Hereditas (Beijing)*, 2015, 37(9): 845–854.  
赵晖, 张永超, 张永清. 自闭症谱系障碍的分子遗传学研究进展. *遗传*, 2015, 37(9): 845–854. [DOI]
- [65] Sanders SJ, Murtha MT, Gupta AR, Murdoch JD, Raubeson MJ, Willsey AJ, Ercan-Sencicek AG, DiLullo NM, Parikshak NN, Stein JL, Walker MF, Ober GT, Teran NA, Song Y, El-Fishawy P, Murtha RC, Choi M, Overton JD, Bjornson RD, Carriero NJ, Meyer KA, Bilguvar K, Mane SM, Sestan N, Lifton RP, Günel M, Roeder K, Geschwind DH, Devlin B, State MW. De novo mutations revealed by whole-exome sequencing are strongly associated with autism. *Nature*, 2012, 485(7397): 237–241. [DOI]
- [66] Wells MF, Wimmer RD, Schmitt LI, Feng G, Halassa MM. Thalamic reticular impairment underlies attention deficit in Ptchd1(Y/–) mice. *Nature*, 2016, 532(7597): 58–63. [DOI]
- [67] Wang T, Guo H, Xiong B, Stessman HA, Wu H, Coe BP, Turner TN, Liu Y, Zhao W, Hoekzema K, Vives L, Xia L, Tang M, Ou J, Chen B, Shen Y, Xun G, Long M, Lin J, Kronenberg ZN, Peng Y, Bai T, Li H, Ke X, Hu Z, Zhao J, Zou X, Xia K, Eichler EE. De novo genic mutations among a Chinese autism spectrum disorder cohort. *Nat Commun*, 2016, 7: 13316. [DOI]
- [68] Xu Q, Liu YY, Wang X, Tan GH, Li HP, Hulbert SW, Li CY, Hu CC, Xiong ZQ, Xu X, Jiang YH. Autism-associated CHD8 deficiency impairs axon development and migration of cortical neurons. *Mol Autism*, 2018, 9: 65. [DOI]
- [69] Katayama Y, Nishiyama M, Shoji H, Ohkawa Y, Kawamura A, Sato T, Suyama M, Takumi T, Miyakawa T, Nakayama KI. CHD8 haploinsufficiency results in autistic-like phenotypes in mice. *Nature*, 2016, 537(7622): 675–679. [DOI]
- [70] Yasin H, Gibson WT, Langlois S, Stowe RM, Tsang ES, Lee L, Poon J, Tran G, Tyson C, Wong CK, Marra MA, Friedman JM, Zahir FR. A distinct neurodevelopmental syndrome with intellectual disability, autism spectrum disorder, characteristic facies, and macrocephaly is caused by defects in CHD8. *J Hum Genet*, 2019, 64(4): 271–280. [DOI]
- [71] 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]
- [72] Jiang YH, Ehlers MD. Modeling autism by SHANK gene mutations in mice. *Neuron*, 2013, 78(1): 8–27. [DOI]
- [73] Zhao H, Tu Z, Xu H, Yan S, Yan H, Zheng Y, Yang W, Zheng J, Li Z, Tian R, Lu Y, Guo X, Jiang YH, Li XJ, Zhang YQ. Altered neurogenesis and disrupted expression of synaptic proteins in prefrontal cortex of SHANK3-deficient non-human primate. *Cell Res*, 2017, 27(10): 1293–1297. [DOI]
- [74] Li Y, Jia X, Wu H, Xun G, Ou J, Zhang Q, Li H, Bai T, Hu Z, Zou X, Xia K, Guo H. Genotype and phenotype correlations for SHANK3 *de novo* mutations in neurodevelopmental disorders. *Am J Med Genet A*, 2018, 176(12): 2668–2676. [DOI]
- [75] Tu Z, Zhao H, Li B, Yan S, Wang L, Tang Y, Li Z, Bai D, Li C, Lin Y, Li Y, Liu J, Xu H, Guo X, Jiang YH, Zhang YQ, Li XJ. CRISPR/Cas9-mediated disruption of SHANK3 in monkey leads to drug-treatable autism-like symptoms. *Hum Mol Genet*, 2019, 28(4): 561–571. [DOI]
- [76] Chaudhry A, Noor A, Degagne B, Baker K, Bok LA, Brady AF, Chitayat D, Chung BH, Cytrynbaum C, Dymont D, Filges I, Helm B, Hutchison HT, Jeng LJ, Laumonnier F, Marshall CR, Menzel M, Parkash S, Parker MJ, DDD Study, Raymond LF, Rideout AL, Roberts W, Rupps R, Schanze I, Schrandt-Stumpel CT, Speevak MD, Stavropoulos DJ, Stevens SJ, Thomas ER, Toutain A, Vergano S, Weksberg R, Scherer SW, Vincent JB, Carter MT. Phenotypic spectrum associated with PTCHD1 deletions and truncating mutations includes intellectual disability and autism spectrum disorder. *Clin Genet*, 2015, 88(3): 224–233. [DOI]
- [77] Tora D, Gomez AM, Michaud JF, Yam PT, Charron F,

- Scheiffele P. Cellular functions of the autism risk factor PTPCHD1 in mice. *J Neurosci*, 2017, 37(49): 11993–12005. [DOI]
- [78] Gau SS, Liao HM, Hong CC, Chien WH, Chen CH. Identification of two inherited copy number variants in a male with autism supports two-hit and compound heterozygosity models of autism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2012, 159B(6): 710–717. [DOI]
- [79] Wang S, Tan N, Zhu X, Yao M, Wang Y, Zhang X, Xu Z. Sh3rf2 haploinsufficiency leads to unilateral neuronal development deficits and autistic-like behaviors in mice. *Cell Rep*, 2018, 25(11): 2963–2971. [DOI]
- [80] Gold WA, Krishnaraj R, Ellaway C, Christodoulou J. Rett syndrome: a genetic update and clinical review focusing on comorbidities. *ACS Chem Neurosci*, 2018, 9(2): 167–176. [DOI]
- [81] Zhai W, Hu HX, Le L, Zhuang FF, Wang KZ, Zhao Y, Wang K, Liu XM, Sun DA, Wang XY, Kuang SH, Hu KP. Generation and analysis of the Rett syndrome-associated MeCP2- null rat model. *Hereditas (Beijing)*, 2016, 38(11): 1004–1011.  
翟伟, 胡宏秀, 乐亮, 庄峰峰, 王克柱, 赵英, 王凯, 刘新民, 孙迪安, 王晓英, 匡世煥, 胡克平. Rett 综合征相关基因 MeCP2 敲除大鼠模型的构建及分析. 遗传, 2016, 38(11): 1004–1011. [DOI]
- [82] Sharma K, Singh J, Pillai PP. MeCP2 differentially regulate the myelin MBP and PLP protein expression in oligodendrocytes and C6 glioma. *J Mol Neurosci*, 2018, 65(3): 343–350. [DOI]
- [83] Cheng TL, Wang Z, Liao Q, Zhu Y, Zhou WH, Xu W, Qiu Z. MeCP2 suppresses nuclear microRNA processing and dendritic growth by regulating the DGCR8/Drosha complex. *Dev Cell*, 2014, 28(5): 547–560. [DOI]
- [84] Yang WX, Pan H. Regulation mechanism and research progress of MeCP2 in Rett syndrome. *Hereditas (Beijing)*, 2014, 36(7): 625–630.  
杨文旭, 潘虹. MeCP2 在 Rett 综合征中的调控机制. 遗传, 2014, 36(7): 625–630. [DOI]
- [85] Li EH, Zhao X, Zhang C, Liu W. Fragile X mental retardation protein participates in non-coding RNA pathways. *Hereditas (Beijing)*, 2018, 40(2): 87–94.  
李恩惠, 赵欣, 张策, 刘威. 脆性 X 智力低下蛋白参与非编码 RNA 通路的研究进展. 遗传, 2018, 40(2): 87–94. [DOI]
- [86] Guo Y, Chen X, Xing R, Wang M, Zhu X, Guo W. Interplay between FMRP and lncRNA TUG1 regulates axonal development through mediating SnoN-Ccd1 pathway. *Hum Mol Genet*, 2018, 27(3): 475–485. [DOI]
- [87] Randle SC. Tuberous sclerosis complex: a review. *Pediatr Ann*, 2017, 46(4): e166–e171. [DOI]
- [88] Jones AC, Shyamsundar MM, Thomas MW, Maynard J, Idziaszczyk S, Tomkins S, Sampson JR, Cheadle JP. Comprehensive mutation analysis of TSC1 and TSC2-and phenotypic correlations in 150 families with tuberous sclerosis. *Am J Hum Genet*, 1999, 64(5): 1305–1315. [DOI]
- [89] Loo L, Simon JM, Xing L, McCoy ES, Niehaus JK, Guo J, Anton ES, Zylka MJ. Single-cell transcriptomic analysis of mouse neocortical development. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 134. [DOI]
- [90] Mickelsen LE, Bolisetty M, Chimileski BR, Fujita A, Beltrami EJ, Costanzo JT, Naparstek JR, Robson P, Jackson AC. Single-cell transcriptomic analysis of the lateral hypothalamic area reveals molecularly distinct populations of inhibitory and excitatory neurons. *Nat Neurosci*, 2019, 22(4): 642–656. [DOI]
- [91] Tiklová K, Björklund ÅK, Lahti L, Fiorenzano A, Nolbrant S, Gillberg L, Volakakis N, Yokota C, Hilscher MM, Hauling T, Holmström F, Joodmardi E, Nilsson M, Parmar M, Perlmann T. Single-cell RNA sequencing reveals midbrain dopamine neuron diversity emerging during mouse brain development. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 581. [DOI]
- [92] Chen TW, Wardill TJ, Sun Y, Pulver SR, Renninger SL, Baohan A, Schreiter ER, Kerr RA, Orger MB, Jayaraman V, Looger LL, Svoboda K, Kim DS. Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature*, 2013, 499(7458): 295–300. [DOI]
- [93] Jing M, Zhang P, Wang G, Feng J, Mesik L, Zeng J, Jiang H, Wang S, Looby JC, Guagliardo NA, Langma LW, Lu J, Zuo Y, Talmage DA, Role LW, Barrett PQ, Zhang LI, Luo M, Song Y, Zhu JJ, Li Y. A genetically encoded fluorescent acetylcholine indicator for *in vitro* and *in vivo* studies. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(8): 726–737. [DOI]
- [94] Sun F, Zeng J, Jing M, Zhou J, Feng J, Owen SF, Luo Y, Li F, Wang H, Yamaguchi T, Yong Z, Gao Y, Peng W, Wang L, Zhang S, Du J, Lin D, Xu M, Kreitzer AC, Cui G, Li Y. A genetically encoded fluorescent sensor enables rapid and specific detection of dopamine in flies, fish, and mice. *Cell*, 2018, 174(2): 481–496.e19. [DOI]
- [95] Zhang B, Chen XF, Huang X, Yang X. Research advances on animal genetics in China in 2015. *Hereditas (Beijing)*, 2016, 38(6): 467–507.  
张博, 陈晓芳, 黄勋, 杨晓. 2015 年中国动物遗传学研究领域若干重要进展. 遗传, 2016, 38(6): 467–507. [DOI]