

仇子龙等获得自闭症模型转基因猴

Zilong Qiu Got Transgenic Monkey of Autism Model

自闭症（也称孤独症）是一类多发于青少年的发育性神经精神疾病，患者多会表现出社交障碍、重复性刻板动作和焦虑抑郁等行为及情绪的异常，目前尚无有效的药物治疗方法。关于自闭症的基础与临床研究以及在尽可能接近人类的动物中构建自闭症动物模型是目前医学与神经科学领域的热点之一。在与自闭症相关的众多基因中，甲基化 CpG 岛结合蛋白 2（MECP2）基因的染色体区段发生拷贝数倍增时，会导致 MECP2 倍增综合症，患者表现出严重自闭症症状。

中科院上海生科院神经所的仇子龙研究组和苏州灵长类平台孙强博士通过使用慢病毒载体侵染带入外源基因的方法，成功建立了在神经系统中特异性过表达 MeCP2 基因的转基因食蟹猴模型。通过分子生物学和生物化学方法的鉴定，外源的 MeCP2 基因有效地插入了食蟹猴的基因组之中，并且能够只在神经系统中进行表达。

在体征观察与记录中，MeCP2 转基因食蟹猴表现出明显的体重发育迟缓以及血浆中脂肪酸代谢的异常，这两种表型也见于一些自闭症患者的临床表现的报道中。而在行为方面，对食蟹猴进行行动路线追踪的结果显示，转基因食蟹猴会花费更多的时间在一种刻板的重复性路径行进上（图 4D）。而当人为的给予转基因食蟹猴威胁性刺激时，相对于野生型食蟹猴，该型食蟹猴会表现出更强烈的焦虑情绪与敌意。在最为重要的社交行为及能力方面，研究人员发现，无论是在社群内的社交行为还是与另一只配对的社交行为，转基因食蟹猴的社交频率统计结果均显著低于野生型对照，该结果对于评估 MeCP2 转基因食蟹猴的类自闭症表型具有重要的意义。

在此之后，研究人员又通过威斯康星认知行为测试对转基因食蟹猴的学习能力进行了评估，在该项实验中，转基因食蟹猴并没有表现出明显的学习障碍，但却出现了被认为是自闭症表征的重复刻板行为。

在自闭症研究中，遗传是不得不考虑的一项重要因素。为了深入研究此问题，在研究人员的努力下，通过将转基因食蟹猴的精巢组织移植至裸鼠皮下发育成熟，成功地在短期内得到了原代转基因食蟹猴（F0）的子代猴（F1）（图 4G），经过遗传学检测，研究人员们发现，F0 代转基因食蟹猴基因组中的外源插入片段的位点，通过种系传递，遗传至 F1 代子猴的基因组中，并且 F1 代子猴中位点的分布与 F0 代比较，呈现出典型的孟德尔分离现象。此结果显示，F1 子代猴从亲代 F0 身上遗传到了神经系统中特异性过表达 MeCP2 的特性，并且针对于 F1 的配对社交行为检测结果也显示，转基因食蟹猴相较于野生型对照也展现出社交行为频率的显著下降，该表型与 F0 亲代猴以及自闭症患者的临床表型是相似的。

在此项研究中，仇子龙研究组与转基因灵长类平台成功建立了神经系统特异性表达 MeCP2 的转基因食蟹猴模型，且该转基因可以通过种系传递向子代进行遗传。并且，在第一代与第二代转基因猴中，MeCP2 的异常表达都导致了转基因食蟹猴出现明显的类自闭症行为，简而言之，使猴子患上了自闭症。

该项工作为观察自闭症的神经科学机理研究提供了一扇重要的窗口,并为之后进一步的研究自闭症的干预方法提供了坚实的基础,最终为自闭症的临床治疗提供了良好的动物模型和试验平台。在接下来的工作中,研究者已经开展了对患有自闭症的 MeCP2 转基因猴进行详细的脑成像研究,以期待用基因编辑的工具对这些携带自闭症基因的转基因猴进行基因治疗,探索最终治愈自闭症的途径。



Autism-like behaviours and germline transmission in transgenic monkeys overexpressing MeCP2

过表达 MeCP2 转基因猴中的自闭症行为和生殖传递

中国科学院神经所 仇子龙 孙强

2016年2月4日

doi:10.1038/nature16533

Methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2) has crucial roles in transcriptional regulation and microRNA processing. Mutations in the MECP2 gene are found in 90% of patients with Rett syndrome, a severe developmental disorder with autistic phenotypes. Duplications of MECP2-containing genomic segments cause the MECP2 duplication syndrome, which shares core symptoms with autism spectrum disorders. Although Mecp2-null mice recapitulate most developmental and behavioural defects seen in patients with Rett syndrome, it has been difficult to identify autism-like behaviours in the mouse model of MeCP2 overexpression. Here we report that lentivirus-based transgenic cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) expressing human MeCP2 in the brain exhibit autism-like behaviours and show germline transmission of the transgene. Expression of the MECP2 transgene was confirmed by western blotting and immunostaining of brain tissues of transgenic monkeys. Genomic integration sites of the transgenes were characterized by a deep-sequencing-based method. As compared to wild-type monkeys, MECP2 transgenic monkeys exhibited a higher frequency of repetitive circular locomotion and increased stress responses, as measured by the threat-related anxiety and defensive test9. The transgenic monkeys showed less interaction with wild-type monkeys within the same group, and also a reduced interaction time when paired with other transgenic monkeys in social interaction tests. The cognitive functions of the transgenic monkeys were largely normal in the Wisconsin general test apparatus, although some showed signs of stereotypic cognitive behaviours. Notably, we succeeded in generating five F1 offspring of MECP2 transgenic monkeys by intracytoplasmic sperm injection with sperm from one F0 transgenic monkey, showing germline transmission and Mendelian segregation of several MECP2 transgenes in the F1 progeny. Moreover, F1 transgenic monkeys also showed reduced social interactions when tested in pairs, as compared to wild-type monkeys of similar age. Together, these results indicate the feasibility and reliability of using genetically engineered non-human primates to study brain disorders.