

综述

丙戊酸在神经发育中的作用

彭康¹, 邓远翔¹, 张嵘^{2,3,4,5,6}, 肖亚倩¹, 王军^{1*}¹湖北工业大学生物工程与食品学院, 武汉 430068; ²北京大学神经科学研究所, 北京 100191;³北京大学基础医学院神经生物学系, 北京 100191; ⁴神经科学教育部重点实验室, 北京 100191;⁵卫生部神经科学重点实验室, 北京 100191; ⁶北京大学医学部孤独症研究中心, 北京 100191)

摘要: 丙戊酸(valproic acid, VPA)是一种分支短链脂肪酸, 是一种抗癫痫药物, 主要用于癫痫, 但也用于双相情感障碍和偏头痛, 具有一定的神经保护作用。然而, 产前暴露于丙戊酸会增加儿童患先天性畸形、孤独症和神经管缺陷的风险, 对子代的神经发育有一定的毒性作用。但丙戊酸具体的致病机制目前还不清楚。目前多项研究已经发现丙戊酸会对子代的不同脑区造成影响, 致使脑区多个通路发生改变。本文综述了目前关于丙戊酸对神经发育影响的研究进展, 探讨了丙戊酸的潜在致病机制和相关因素。

关键词: 丙戊酸; 产前暴露; 神经发育; 脑区

The roles of valproic acid on neurodevelopment

PENG Kang¹, DENG Yuanxiang¹, ZHANG Rong^{2,3,4,5,6}, XIAO Yaqian¹, WANG Jun^{1*}¹College of Bioengineering and Food Science, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China;²Institute of Neuroscience, Peking University, Beijing 100191, China; ³Department of Neurobiology, School ofBasic Medicine, Peking University, Beijing 100191, China; ⁴Key Laboratory of Neuroscience Ministry of Education, Beijing 100191, China; ⁵Key Laboratory of Neuroscience, Ministry of Health, Beijing 100191, China;⁶Autism Research Center, Health Science Center, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: Valproic acid (VPA), a branched short-chain fatty acid, is an antiepileptic drug. Valproic acid is mainly used for epilepsy, but also for bipolar disorder and migraine. It has neuroprotective effect. However, prenatal exposure to valproic acid increases the risk of congenital malformations, autism, and neural tube defects of children. Valproic acid has toxic effects on the neurodevelopment of offspring, but its specific mechanism is still unclear. At present, many studies have found that valproic acid can affect different brain regions of offspring and change multiple pathways in brain regions. This article reviewed the current research progress on the effects of valproic acid on neurodevelopment, and discussed the underlying mechanisms and related factors of these effects on valproic acid.

Key Words: valproic acid; prenatal exposure; neurodevelopment; brain regions

丙戊酸是一种经批准用于治疗癫痫发作、双相情感障碍和偏头痛的药物。到目前为止报道的

丙戊酸的作用包括: (1)通过增加 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)的合成, 增强GABA的

收稿日期: 2023-02-18

基金项目: 科技部-国家级外国专家项目(G2022027010L); 湖北省楚天学者高层次人才项目(337/370)

第一作者: E-mail: 1991960898@qq.com

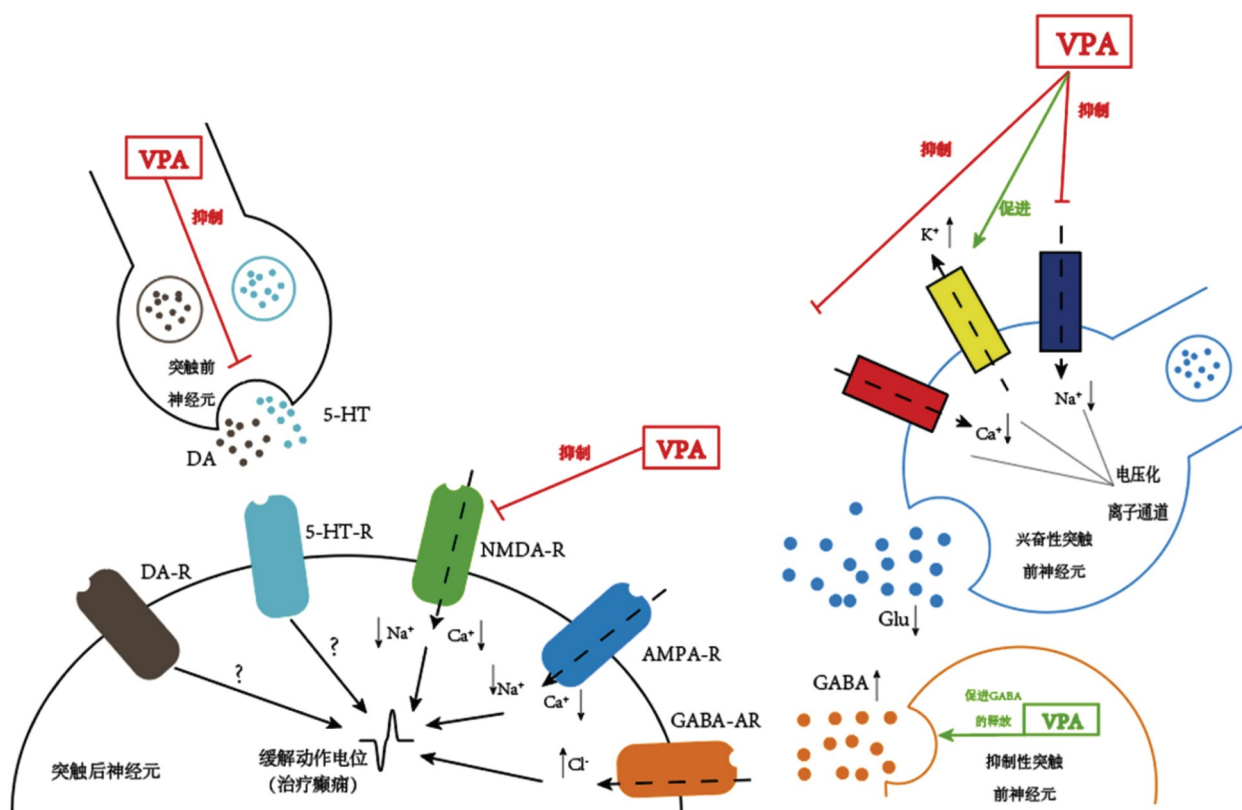
*通信作者: E-mail: 2491549178@qq.com

传递,减少GABA的转运,抑制GABA的降解^[1,2];
(2)减少兴奋性氨基酸 β -羟基丁酸的释放,并抑制N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA)介导的兴奋性传递^[3,4]; (3)封闭电压化钠通道,阻滞钙通道,升高钙活化钾电流的电位^[5]; (4)抑制5-羟色胺和多巴胺能神经传递^[6]; (5)抑制组蛋白去乙酰化酶^[7,8](图1)。多个作用机制可以解释该药物的广谱抗癫痫作用和它在其他适应症如偏头痛和情绪障碍中的作用。然而,产前暴露于丙戊酸会增加儿童患先天性畸形、孤独症和神经管缺陷的风险,其对子代的神经发育有一定的毒性作用,上述的那些作用机制也许能解释丙戊酸的毒性作用。丙戊酸的神经发育的毒性作用对不同的脑区和不同的神经部位的作用机理也不同。产前丙戊酸暴露可以改变子代海马中神经干细胞与细胞迁移相关的基因的表达,包括CXC趋化因子受体4(C-X-C motif chemokine receptor 4, Cxcr4),从而增加新生神经

元在门区的异常定位,增加子代癫痫易感性和异位海马神经发生^[9]。产前暴露于丙戊酸会诱导大鼠子代的神经元损失和海马角1(cornu ammonis 1, CA1)区中锥体细胞的凋亡^[10]。丙戊酸暴露的动物子代的杏仁核表现出Ephrin受体(酪氨酸激酶受体)和钙信号通路受损^[11]。同时在解剖学上,产前暴露于丙戊酸会使大鼠子代脑重量和皮质厚度减少,眼窝前额叶皮层(orbitofrontal cortex, OFC)和内侧前额叶皮层(medial prefrontal cortex, mPFC)的树突分支减少,mPFC、OFC和小脑的树突棘密度减少^[12]。近二十年的研究表明,丙戊酸子代大脑的发育可能受到不同部位的几种细胞和分子机制的共同影响,这可能也是其神经发育毒性的原因。

1 丙戊酸与神经发育性疾病

丙戊酸是已知的人类致畸剂及其在怀孕期间的处方,尤其是在妊娠早期可能导致多发性出生



DA: 多巴胺(dopamine); 5-HT: 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine); DA-R: 多巴胺受体(dopamine receptor); 5-HT-R: 5-羟色胺受体(5-hydroxytryptamine receptor); AMPA-R: α -氨基-3-羟基-5-甲基异恶唑-4-丙酸受体(α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionate receptor); GABA-AR: γ -氨基丁酸A型受体(γ -aminobutyric acid-A receptor)

图1 丙戊酸治疗癫痫的作用机制

缺陷, 这些缺陷总体上被称为“胎儿丙戊酸盐综合征”^[13]。胎儿丙戊酸盐综合征的风险主要与胎儿发育的器官发生阶段(妊娠17~60 d)有关。丙戊酸所引起的先天性缺陷主要是神经管缺陷、生长迟缓、面部畸形^[14]、注意力缺陷多动障碍^[15]、出生后认知发育迟缓^[16]以及孤独症^[17]。丙戊酸盐的产前暴露与语言和记忆能力的缺陷相关, 这些认知缺陷部分与剂量相关^[16,18]。一项报告表明, 丙戊酸的产前暴露使子代患孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)和注意力缺陷多动障碍(attention deficit hyperactivity disorder, ADHD)的风险增加3~5倍^[15,19]。美国和英国的一项前瞻性观察研究纳入了接受抗癫痫药单药治疗超过5年的癫痫孕妇, 在怀孕期间服用丙戊酸盐的母亲的孩子被诊断为ADHD的风险显著增加^[15]。估计有30%-40%在子宫内接触过丙戊酸盐的学龄前儿童可能受到影响。母亲在怀孕期间接触任何抗癫痫药都会增加胎儿先天性异常的风险。风险因药物而异, 但风险最大的是丙戊酸盐, 其风险高达10%, 比平均风险高几倍^[20,21]。

2 丙戊酸与大脑

丙戊酸可以对大脑的不同部位和不同细胞造成损伤, 同时也会使相关的基因产生异常的变化^[12,22-63]。丙戊酸对脑区的影响主要集中在皮层、海马、杏仁核、下丘脑以及脑干上, 其具体的作用机制将会在下文详细讨论。

2.1 丙戊酸对皮层的影响

2.1.1 丙戊酸对皮层神经元发育过程中结构和功能的改变

产前暴露于丙戊酸的大鼠子代会发生皮质厚度减少, OFC和mPFC的树突分支减少, mPFC和OFC的树突棘密度减少的现象^[12]。且出生前丙戊酸暴露会导致胚胎大脑中短暂的组蛋白乙酰化过度, 出生后前额叶和躯体感觉皮质中的神经元细胞数量减少^[40]。体外实验中, 丙戊酸会抑制培养皮质神经元抑制性突触的形成, 当神经元在发育早期暴露于1 mmol/L丙戊酸时, 泡状GABA转运体(vesicular GABA transporter, VGAT)的表达减少, 免疫组织化学分析表明, 丙戊酸暴露导致特异性GABA能神经元轴突生长迟滞, VGAT阳性突触减

少^[41]。胎儿暴露于丙戊酸会导致皮质发育不良, 这可能是由神经元迁移缺陷和神经元死亡引起的^[44]。基底神经元(subplate neurons, SPN)形成了最早的皮层微回路, 是丘脑皮层和皮层内回路正常发育所必需的, 产前暴露于丙戊酸会增加ASD的风险, 特别是在SPN发生的关键时间窗出现时。小鼠皮层的光电路映射表明, 丙戊酸暴露改变了SPN的兴奋性和抑制性连接功能^[48]。

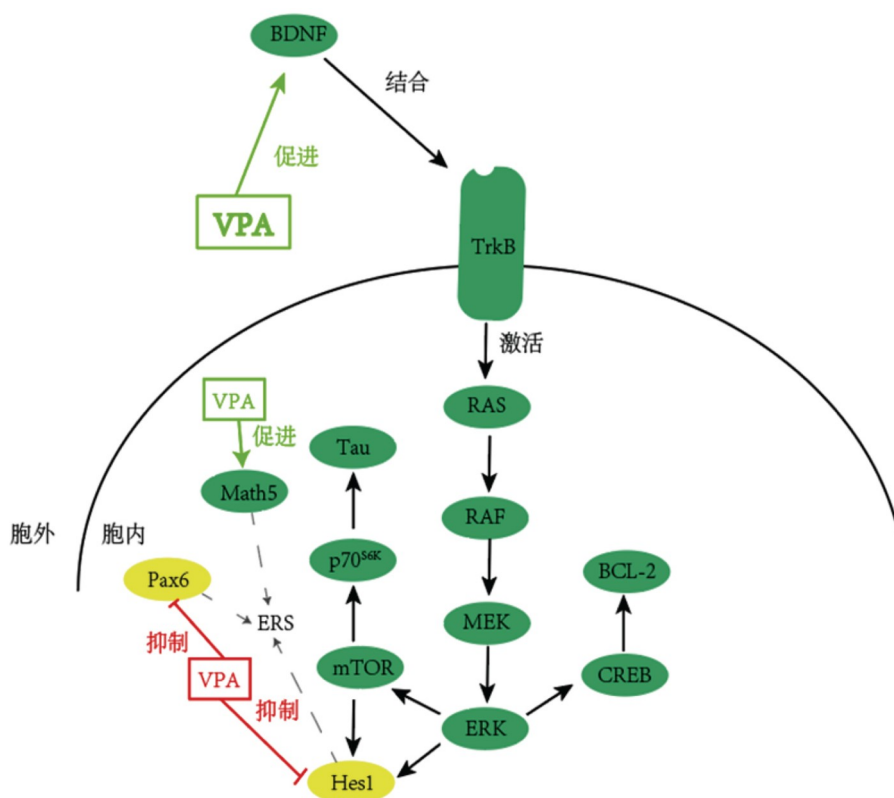
2.1.2 丙戊酸对皮层基因与蛋白的影响

(1)丙戊酸对皮层神经发育相关信号通路功能的影响

丙戊酸可以促进细胞外信号调节激酶(extracellular-signal-regulated kinase, ERK)途径依赖的皮质神经元生长和神经发生。ERK通路被神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)用来调节神经发生、神经突起生长和神经元存活。具体表现为, BDNF激活有丝分裂原活化蛋白激酶通路, 并通过该通路产生细胞神经营养作用^[36,38,45,59]。丙戊酸对大鼠的慢性暴露增加了皮层神经元中活化的磷酸ERK44/42的水平, 在该区域中, 丙戊酸诱导了ERK途径调节基因B细胞淋巴瘤蛋白-2基因(B-cell lymphoma-2, *Bcl-2*)表达的增加^[35]。在丙戊酸大鼠的皮层的匀浆中, 磷酸化ERK44/42、磷酸化核糖体S6激酶1(ERK底物)、磷酸化环磷腺苷效应元件结合蛋白、磷酸化Bcl-2相关死亡蛋白、BDNF和Bcl-2的表达均增加^[29,61](图2和表1)。

(2)丙戊酸对皮层蛋白翻译后修饰以及抗氧化相关基因的影响

丙戊酸还可以改变大鼠脑内Tau蛋白的磷酸化, 母体暴露于丙戊酸会诱导子代大脑皮质中Tau蛋白的积累, α/β -微管蛋白水平降低, 使得大脑皮层中Tau激酶的过度Tau蛋白磷酸化和活化, 还会引起大鼠子代海马和大脑皮层中mTOR激酶依赖性信号传导的上调^[31]。在子宫中暴露于丙戊酸的小鼠前额叶皮质中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性比对照组更强, 脂质过氧化作用和抗氧化基因表达也会发生变化^[51], 其趋势与ERK途径的变化相同, 这可能与丙戊酸引起的细胞信号的变化有关。此外, 丙戊酸能使得皮层中参与昼夜节律的



TrkB: 酪氨酸激酶 B(tropomyosin receptor kinase B); RAS: 大鼠肉瘤蛋白(rat sarcoma); RAF: RAS蛋白的直接效应子(rapidly accelerated fibrosarcoma); MEK: 促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase kinase); ERK: 细胞外信号调节激酶; CREB: cAMP反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein); mTOR: 哺乳动物类雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin); p70^{S6K}: p70核糖体蛋白S6激酶(70 kDa ribosomal protein S6 kinase); ERS: 内质网应激(endoplasmic reticulum stress)

图2 丙戊酸对皮质部分通路的影响

调节的基因和突触抑制的基因下调^[50], 详细的基因变化如表1。

2.1.2.3 丙戊酸导致皮层内质网应激

丙戊酸能使得大鼠整个皮层处于应激状态, 丙戊酸小鼠的大脑皮层处于高内质网应激状态。在ASD模型小鼠的大脑皮层中, *Hes1*和*Pax6*的mRNA水平降低。此外, 大脑皮层中*Math1*的mRNA水平增加^[39]。内质网应激会随着*Hes1*和*Pax6* mRNA的表达而降低, 随着*Math1* mRNA的表达而增加。在体外实验中内质网应激抑制了小鼠大脑皮质原代培养物中树突和轴突的延伸, 这表明内质网应激可能诱导丙戊酸小鼠胚胎大脑皮层异常神经元成熟^[39]。

2.2 丙戊酸对海马的影响

2.2.1 丙戊酸对海马神经元结构和细胞增殖的影响

海马位于大脑皮质下方, 担当着关于短期记忆、长期记忆, 以及空间定位的作用。海马区位

于大脑皮质的一个内褶区, 而海马区可以细分为4个部分: 齿状回(dentate gyrus, DG), 和CA1、CA2、CA3区^[64,65]。产前暴露于丙戊酸会对海马体造成伤害, 其不良反应与海马神经减少和记忆减少有关。丙戊酸暴露对海马的影响有3个方面: (1)引起海马齿状回神经元异常定位和异常的细胞增殖^[9]; (2)导致海马CA1区发生损伤^[30]; (3)造成海马中小胶质细胞的增加^[43]。

(1)丙戊酸会引起海马齿状回神经元异常定位和异常的细胞增殖

丙戊酸暴露会引起海马齿状回神经元异常定位和异常的细胞增殖^[9]。成年哺乳动物的大脑在海马齿状回的亚颗粒区保留着神经干细胞, 这些神经干细胞在一生中不断生成新的神经元^[34]。新生神经元迁移, 定居在颗粒细胞层, 最终成为成熟的颗粒细胞。成年DG中新生神经元的准确迁移对海马生理功能至关重要, 因此它们的错定位经常

表1 丙戊酸对皮层基因的改变

基因	全称	通路相关	变化	参考文献
<i>NLGN3</i>	Neuregulin gene 3	神经发育	下调	[30]
<i>BDNF</i>	Brain-derived neurotrophic factor	神经发育	上调	[22]
<i>ERK</i>	Extracellular-signal-regulated kinase	细胞信号调节	上调	[29,35,61]
<i>RSK1</i>	Ribosomal S6 kinase 1	细胞信号调节	上调	[29,61]
<i>CREB</i>	cAMP response element-binding protein	细胞信号调节	上调	[29,61]
<i>BAD</i>	B-cell lymphoma protein 2-associated death protein	细胞凋亡	上调	[29,61]
<i>Bcl-2</i>	B-cell lymphoma protein 2 (CREB-regulated gene products)	细胞凋亡	上调	[29,35,61]
<i>SOD</i>	Superoxide dismutase	氧化还原	上调	[51]
<i>CAT</i>	Catalase	氧化还原	上调	[51]
<i>GPX</i>	Glutathione peroxidase	氧化还原	上调	[51]
<i>Bhlhe40</i>	Basic helix-loop-helix transcription factor 40	生物节律调节	下调	[50]
<i>Per1</i>	Period circadian regulator 1	生物节律调节	下调	[50]
<i>Per2</i>	Period circadian regulator 2	生物节律调节	下调	[50]
<i>GAD67</i>	Glutamic acid decarboxylase 67-kilodalton isoform	突触抑制	下调	[60]
<i>GAD65</i>	Glutamic acid decarboxylase 65-kilodalton isoform	突触抑制	下调	[60]
<i>Hes1</i>	Hairy and enhancer of split 1	内质网应激	下调	[39]
<i>Pax6</i>	Paired box 6	内质网应激	下调	[39]
<i>Math1</i>	Math 1	内质网应激	上调	[39]
<i>mTOR</i>	Mammalian target of rapamycin	癌症	上调	[31]

导致通过异常神经元回路的形成从而导致神经元功能障碍^[53]。Tomson等^[9]发现, 产前丙戊酸暴露增加癫痫易感性和异位海马神经发生, 与对照组相比, 丙戊酸小鼠神经元分化和神经系统发育相关基因的表达显著增加, 表明丙戊酸促进神经干细胞向神经元分化。他们证实了由神经干细胞新生成的神经元整合到成熟海马的颗粒细胞层中; 然而, 产前丙戊酸暴露改变了神经干细胞中与细胞迁移相关的基因的表达, 包括Cxcr4, 因此增加了新生神经元在门区的异常定位。

(2) 丙戊酸会导致海马CA1区发生损伤

丙戊酸暴露会导致海马CA1区发生损伤^[54]。产前暴露丙戊酸幼鼠的海马切片CA1区局部场电位表明产前丙戊酸暴露使得海马的兴奋性加剧, 与对照组相比, 丙戊酸组的电信号振幅和兴奋性突触后场电位斜率增加^[30]。此外, 产前暴露于丙戊酸会导致神经元损失和海马CA1中锥体细胞的凋亡, 且产前暴露于丙戊酸的小鼠表现出海马CA1区树突脊柱密度的下降^[54]。

(3) 丙戊酸会导致海马小胶质细胞异常增殖

丙戊酸暴露造成海马中小胶质细胞的增

加^[43]。小胶质细胞占有所有脑细胞的10%~15%和总神经胶质细胞群的5%~20%^[33]。它们在胚胎发生早期发育, 填充发育中的神经系统并具有先天免疫细胞特征。小胶质细胞通常被称为大脑的常驻免疫细胞, 可支持组织修复和重塑以及中枢神经系统的免疫功能^[46]。Lucchina等^[43]发现, 与对照组小鼠相比, 产前暴露于丙戊酸的小鼠显示出神经炎症增加的迹象: 它们在海马中有更多的小胶质细胞, 并且显示出更高水平的促炎细胞因子。此外, 在丙戊酸注射后24 h, 海马中的小胶质细胞形态变化被迅速诱导^[58]。

2.2.2 丙戊酸对海马神经系统发育相关基因和突触抑制相关基因的影响

丙戊酸对海马通路上的改变主要集中在神经系统发育相关基因和突触抑制基因, 其次还有炎症反应相关基因与癌症发生相关基因(表2)。从表中可以看出, 丙戊酸暴露会使得海马的神经发育相关和炎症相关的通路整体下调, 而使得突触抑制和癌症相关通路整体上调。丙戊酸的产前暴露会增加儿童先天性畸形、孤独症和神经管微管缺陷的风险^[17,55]。其中孤独症是神经发育性疾病, 神

表2 丙戊酸对海马基因的改变

基因	全称	通路相关	变化	参考文献
<i>NLGN3</i>	Neuroligin gene 3	神经系统发育	下调	[30]
<i>Msx1</i>	Mshhomeobox 1	神经系统发育	下调	[68]
<i>Foxj1</i>	Forkheadbox J1	神经系统发育	下调	[68]
<i>DCX</i>	Doublecortin	神经元分化	下调	[30]
<i>NeuroD</i>	NeuroD	神经元分化	下调	[58]
<i>Xcl1</i>	X-C motif chemokine ligand 1	炎症反应	下调	[68]
<i>C3</i>	Complement C3	炎症反应	下调	[68]
<i>GAD65</i>	Glutamic acid decarboxylase 65-kilodalton isoform	突触抑制	上调	[60]
<i>GAD67</i>	Glutamic acid decarboxylase 67-kilodalton isoform	突触抑制	下调	[60]
<i>Grin3b</i>	Glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 3B	突触抑制	上调	[68]
<i>Gla1</i>	Glycine receptor alpha 1	突触抑制	上调	[68]
<i>mTOR</i>	Mammalian target of rapamycin	癌症	上调	[31]

经微管缺陷也与神经发育相关,且丙戊酸会导致海马区的异位定位和异常放电^[30,56]。这很有可能是其神经发育相关通路的改变所导致的。这些神经通路的改变很有可能会导致某些神经结构发生改变,如突触。GABA和甘氨酸是中枢神经系统内最重要的两种抑制性神经递质并在大脑和脊髓中分别介导突触抑制,它们分别通过激活GABA受体和甘氨酸受体而发挥作用^[66]。*GAD65*(glutamic acid decarboxylase 65-kilodalton isoform)和*GAD67*(glutamic acid decarboxylase 67-kilodalton isoform)是谷氨酸合成相关的基因,*Grin3b*(glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 3B)是谷氨酸的离子受体的一个亚型,而谷氨酸又是GABA的代谢前体^[67]。从表2中可以看出产前暴露于丙戊酸会导致*GAD65*、*GAD67*、*Grin3b*等与谷氨酸合成的基因上调,会导致GABA的合成增加,从而造成突触抑制,对突触的兴奋性产生影响。*Gla1*(glycine receptor alpha 1)是甘氨酸受体,从表2中可以看出产前暴露丙戊酸会导致*Gla1*的上调,同样会造成突触抑制^[68],具体机制见图3。因此,丙戊酸能改变中枢神经系统内最重要两种抑制性神经递质来造成其神经毒性。

2.3 丙戊酸对杏仁核的影响

2.3.1 丙戊酸对杏仁核结构和功能改变

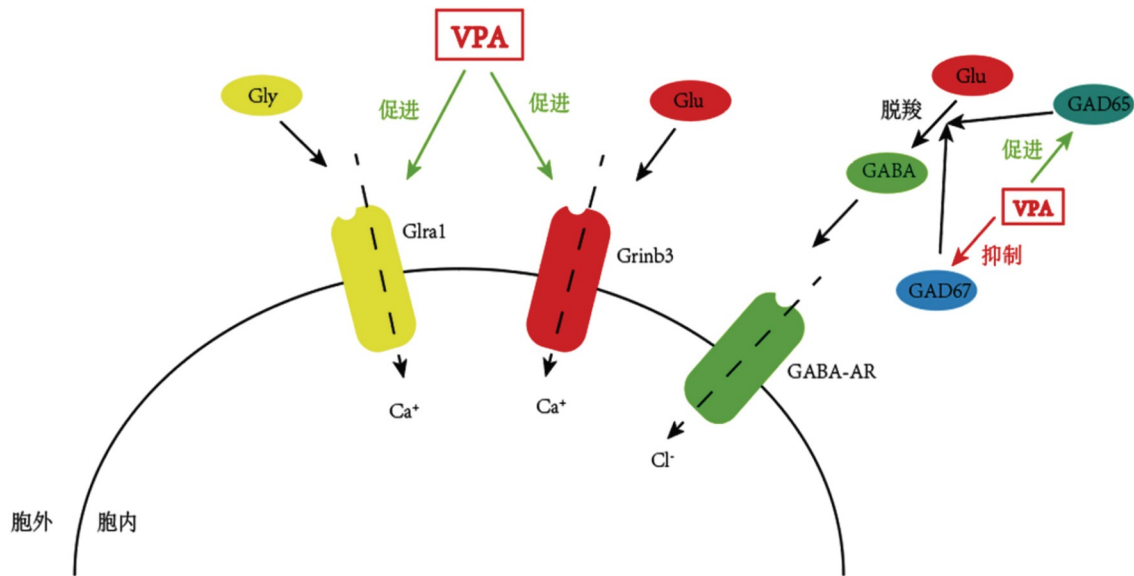
杏仁核控制着社会情感行为,丙戊酸可以改变与ASD有关的大脑区域的神经回路,杏仁核也是研究这些回路的破坏如何导致情绪和行为异常

的有用工具。杏仁核功能异常一直被认为与ASD的病因有关^[69]。据报道,ASD患者在社交任务中存在杏仁核结构异常^[70-72]、神经元密度异常^[73,74]和功能磁共振活动异常^[75,76]。产前丙戊酸暴露可诱导杏仁核神经元过度兴奋和增塑性、抑制性突触传递减少^[42,47]以及神经微电路的局部超连接但远端连接性低。在产前暴露于丙戊酸的大鼠中,局部杏仁核过度活跃有助于增强恐惧记忆、过度泛化恐惧、减少恐惧消退和增强焦虑。大鼠杏仁核在出生后的最初几周内发生了GABA和谷氨酸信号、结构和功能的显著变化^[28,77]。在出生后第10天,学习恐惧关联的能力出现,同时杏仁核的功能、分子和生理发生变化^[52,77]。基底外侧杏仁核(basolateral amygdala, BLA)也是控制情绪唤醒和社会行为的多模态感觉信息处理的重要中心。大鼠在出生后第7~28 d, BLA主要神经元的分子和电生理特性发生了变化, GABA神经元纤维和细胞体密度也发生了变化^[24,77]。在丙戊酸注射后24 h,杏仁核中的小胶质细胞形态变化和海马中一样被迅速诱导,同时丙戊酸破坏了神经细胞分化程序^[58]。

2.3.2 丙戊酸对杏仁核基因与蛋白的影响

(1)丙戊酸对杏仁核转录水平的影响

Barrett等^[11]做过产前暴露丙戊酸大鼠子代的杏仁核的转录组测序,杏仁核显示出许多类似的基因通路的改变,包括细胞死亡、细胞信号、发育、增殖、运动、炎症疾病、神经疾病、发育、心理障碍等。与神经系统发育与功能相关的通路



Gly: 甘氨酸(glycine); Grin3b: 谷氨酸离子型受体3B(glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 3B)

图3 丙戊酸对海马部分通路的影响

整体显示上调,与发育疾病和心理障碍整体下调,与免疫系统、癌症和炎症疾病相关的通路显示整体的上调,与细胞增殖相关的通路显示上调,而与细胞死亡相关的通路显示整体下调^[11]。这表明产前暴露于丙戊酸会使得子代的神经系统发生异常增殖,这可能与杏仁核的小胶质细胞的异常增殖有关。小胶质细胞通常被称为大脑的常驻免疫细胞,而小胶质细胞在杏仁核的异常增殖与形态变化可能会引起与神经发育和其他相关的通路变化^[25,32,43,58]。

此外,一项研究表明,丙戊酸引发的孤独症大鼠模型中增大的杏仁核中miR-181c和miR-30d水平升高,神经元发育和形态的改变可能是由微小核糖核酸(microRNA, miRNA)严格调控下的常见转录后过程引起的^[49]。选择性抑制miR-181c功能减弱了神经突生长和分支,并导致体外初级杏仁核神经元中突触密度降低。miR-181c和miR-30d表达水平编码参与神经元系统发育的蛋白质的同源mRNA靶的表达,神经元发育和形态的改变可能是由微小核糖核酸调控下的转录后过程引起^[49]。

(2)丙戊酸对杏仁核钙信号通路以及PKA信号通路的影响

除了这些通路,钙信号通路也发生了显著改变。丙戊酸暴露的动物表现出Ephrin和钙信号通路受损,在转录组学和蛋白质组学分析中,钙调蛋

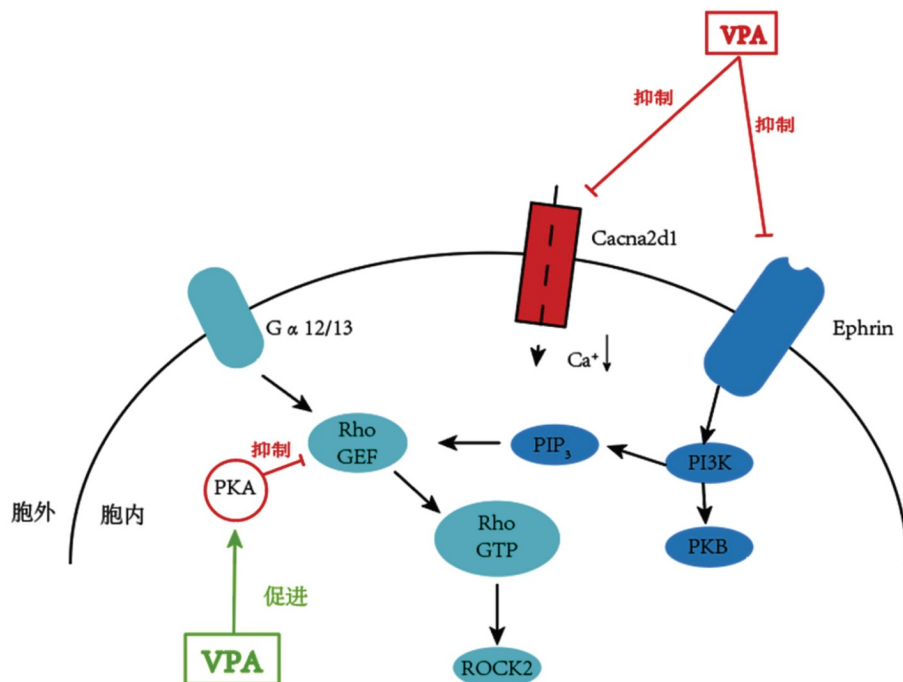
白受体2(ryanodine receptor 2, Ryr2)和钙通道复合体编码基因(calcium channel $\alpha 2\delta 1$ subunit, Cacna2d1)表达降低,Rho家族相关卷曲螺旋蛋白激酶2(Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase 2, ROCK2)(抑制树突重塑的下游效应子)的减少,可能导致丙戊酸动物树突棘的结构变化。Rho家族的鸟苷三磷酸酶(guanosine triphosphate synthetase, GTPases)信号通路显示下调,Rho-GTPases是神经元运动和形态的重要调节因子,特别是在树突棘的发育和成熟过程中,这表明丙戊酸的产前暴露可能会引起动物树突棘的结构变化^[11]。与生理盐水组相比,产前暴露于丙戊酸大鼠子代的杏仁核蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)信号在增加,PKA信号通路调节情绪和社交焦虑,该通路的功能障碍与ASD有关^[11]。PKA的改变可能是丙戊酸暴露动物杏仁核中突触可塑性和活性变化的基础(图4)。

2.4 丙戊酸对下丘脑的影响

下丘脑控制着范围广泛的生理过程,包括能量平衡的稳态、昼夜节律和应激反应,以及生长和生殖行为^[78]。产前暴露于丙戊酸的大鼠的下丘脑中Kappa阿片受体(opioid receptor kappa 1, Oprk1)、强啡肽原(prodynorphin, Pdyn)、痛敏肽(nociceptin, NC) mRNA表达降低^[37]。同时,与对照大鼠相比,产前暴露的丙戊酸大鼠在下丘脑中

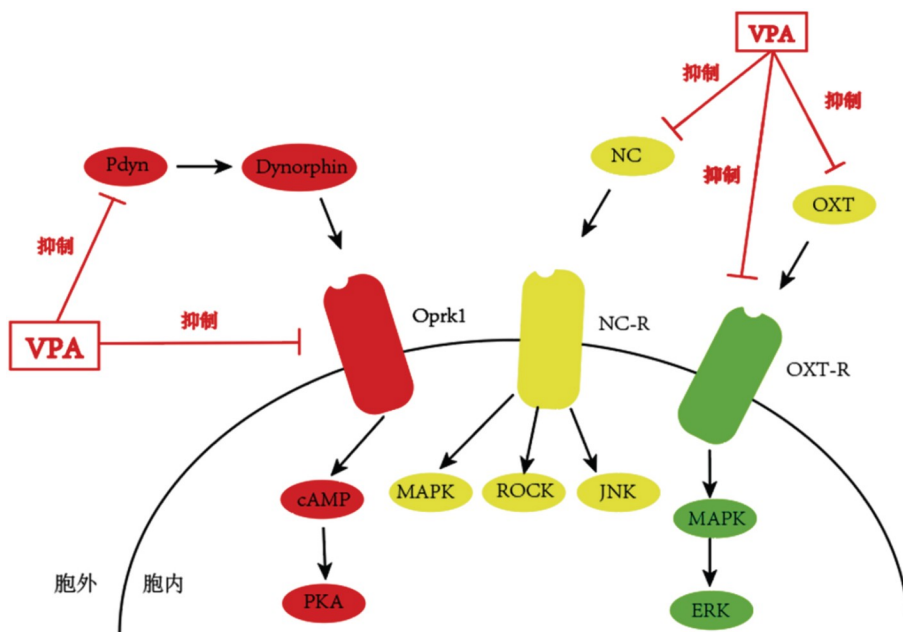
表现出较低水平的催产素(oxytocin, OXT)和催产素受体(oxytocin receptor, OXT-R)以及较少的催产素免疫反应细胞^[26,57]。这表明产前暴露丙戊酸大鼠的催产素信号和阿片类信号存在缺陷(图5)。在体

外试验中,丙戊酸可以增加小鼠下丘脑GT1-7细胞中的脂肪组织与肥胖相关基因(Fat mass and obesity associated gene, FTO) mRNA和蛋白质表达。有趣的是,丙戊酸促进组蛋白乙酰化和FTO表达,这可



GEF: 鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor); PI3K: 磷脂酰肌醇激酶(phosphoinositide 3-kinase); PIP₃: 3磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 3-phosphate); PKB: 蛋白激酶B(protein kinase B)

图4 丙戊酸对杏仁核部分通路的影响



cAMP: 环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate); MAPK: 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase); JNK: 应激活化蛋白激酶(c-Jun N-terminal kinase)

图5 丙戊酸对下丘脑部分通路的影响

以被组蛋白乙酰转移酶抑制剂C646逆转。同时,在丙戊酸处理小鼠的下丘脑中,FTO表达上调,FTO与FTO启动子的结合减少,组蛋白乙酰化增加^[62]。

2.5 丙戊酸对脑干的影响

脑干在脊髓和大脑之间传递感觉和运动输入,脑干功能障碍可能导致感觉和运动缺陷、颅神经麻痹、意识障碍、自主神经功能障碍和呼吸衰竭^[23]。产前暴露于丙戊酸可导致听性脑干发育不良和钙结合蛋白免疫标记降低,子宫内暴露于丙戊酸的啮齿类动物的听觉脑干中发现了显著的畸形和发育不良。暴露于丙戊酸的动物钙结合蛋白和的免疫标记减少,多巴胺能末端的密度降低。这些结果表明,产前丙戊酸暴露会使得听觉脑干发育不良,钙调节异常,多巴胺能输入减少^[63]。此外,产前暴露于丙戊酸会影响大鼠脑中c-Fos的表达。产前暴露于丙戊酸被用作ASD的动物模型与许多解剖、生理和行为缺陷相关,包括听觉脑干中枢发育不全和畸形。在暴露于丙戊酸的动物的听觉脑干中发现了明显更多的c-Fos阳性神经元^[27]。

3 总结与展望

丙戊酸作为一种经批准用于治疗癫痫发作、双相情感障碍和偏头痛的药物,对孕妇的孩子有一定的神经发育影响,严重时会导致神经管缺陷、生长迟缓、出生后认知发育迟缓^[16]以及孤独症^[17],但其中的具体机制还不清楚。本文综述了相关的文献,发现丙戊酸对神经发育的影响涉及到多个脑区与细胞,其中涉及到的通路也是很多。丙戊酸对大脑皮层的影响主要表现在减少眼窝前额叶皮层和内侧前额叶皮层的树突分支,减少OFC和mPFC的树突棘密度^[12],影响皮层神经元细胞的分化以及影响皮层回路的兴奋性和连接性^[48]。而丙戊酸对皮层相关通路的影响主要体现在神经发育、细胞信号调节、氧化还原、生物节律调节、突触抑制、内质网应激、癌症等方面^[22,29-31,35,39,50,51,60,61],这可能是其造成的神经发育的相关影响的潜在原因。丙戊酸对大脑海马的影响主要表现在引起海马齿状回神经元异常定位和异常的细胞增殖,导致海马CA1区发生损伤以及造成海马中小胶质细胞

的异常增殖^[9,54,56,58],涉及到的通路有神经系统发育、神经元分化、炎症反应、突触抑制、癌症等^[30,31,58,60,68]。由于海马区担任着短期记忆、长期记忆,以及空间定位的功能,这些通路的改变可能是丙戊酸所造成的认知障碍的潜在原因。而丙戊酸对杏仁核的主要影响体现在杏仁核结构异常、神经元过度兴奋和可塑性、抑制性突触传递减少^[42,47,70-72]。除此之外,丙戊酸还会引起GABA和谷氨酸信号、结构和功能的显著变化^[28,77]。丙戊酸引起的杏仁核的通路改变主要集中在细胞死亡、细胞信号、发育、增殖、运动、炎症疾病、神经疾病、发育、心理障碍等^[11]。由于杏仁核控制着社会情感行为,丙戊酸可以改变与ASD有关的大脑区域的神经回路,这些丙戊酸引起的杏仁核的通路的变化可能是引起孤独症的潜在致病机理。丙戊酸对下丘脑的影响主要在于催产素信号和阿片类信号的破坏以及对脂肪组织与肥胖相关基因表达的增加,而对脑干的影响主要集中在脑干发育不全以及钙信号通路的改变。

丙戊酸除了是抗癫痫的药物之外,同时它也是作为孤独症模型塑造的一种非常常见的药物^[79]。在过去二十年中,孤独症谱系障碍的患病率一直在稳步上升,目前估计高达每36名儿童中就有1名患病。将近75%的孤独症患者患有并存的精神疾病或病症,其中可能包括注意力缺陷多动障碍、焦虑症、双相情感障碍、抑郁症、Rett综合征等^[80]。因此孤独症谱系障碍会对家庭造成极重的负担。而孤独症的致病机理还不清楚,现在主要的治疗孤独症的方法主要起到缓解的作用,做不到对症下药。孤独症因其不确定的起源和显著且无法解释的临床异质性而引起了科学家、临床医生和普通公众的关注,而研究孤独症的致病机理与治疗方法已成为当务之急。丙戊酸作为孤独症的常见造模药物也引起了相关研究者的重视。本文综述的大部分文献都与产前暴露于丙戊酸有关,产前暴露丙戊酸也是孤独症的常见造模方法,希望本文所综述的内容能为相关研究提供一定的启示。

参考文献

- [1] Singh D, Gupta S, Verma I, et al. Hidden pharmacological

- activities of valproic acid: a new insight. *Biomed Pharmacother*, 2021, 142: 112021
- [2] Chu MC, Wu HF, Lee CW, et al. Generational synaptic functions of GABAA receptor $\beta 3$ subunit deteriorations in an animal model of social deficit. *J Biomed Sci*, 2022, 29(1): 51
- [3] Gean PW, Huang CC, Hung CR, et al. Valproic acid suppresses the synaptic response mediated by the NMDA receptors in rat amygdalar slices. *Brain Res Bull*, 1994, 33(3): 333-336
- [4] Kang J, Kim E. Suppression of NMDA receptor function in mice prenatally exposed to valproic acid improves social deficits and repetitive behaviors. *Front Mol Neurosci*, 2015, 8: 17
- [5] Zanatta G, Sula A, Miles AJ, et al. Valproic acid interactions with the NavMs voltage-gated sodium channel. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(52): 26549-26554
- [6] Adjimann TS, Argañaraz CV, Soiza-Reilly M. Serotonin-related rodent models of early-life exposure relevant for neurodevelopmental vulnerability to psychiatric disorders. *Transl Psychiatry*, 2021, 11(1): 280
- [7] Perucca E. Pharmacological and therapeutic properties of valproate. *CNS Drugs*, 2002, 16(10): 695-714
- [8] Chateauvieux S, Morceau F, Dicato M, et al. Molecular and therapeutic potential and toxicity of valproic acid. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 2010: 1-18
- [9] Sakai A, Matsuda T, Doi H, et al. Ectopic neurogenesis induced by prenatal antiepileptic drug exposure augments seizure susceptibility in adult mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(16): 4270-4275
- [10] Gao J, Wu H, Cao Y, et al. Maternal DHA supplementation protects rat offspring against impairment of learning and memory following prenatal exposure to valproic acid. *J Nutr Biochem*, 2016, 35: 87-95
- [11] Barrett CE, Hennessey TM, Gordon KM, et al. Developmental disruption of amygdala transcriptome and socio-emotional behavior in rats exposed to valproic acid prenatally. *Mol Autism*, 2017, 8(1): 42
- [12] Mychasiuk R, Richards S, Nakahashi A, et al. Effects of rat prenatal exposure to valproic acid on behaviour and neuro-anatomy. *Dev Neurosci*, 2012, 34(2-3): 268-276
- [13] Ornoy A. Valproic acid in pregnancy: How much are we endangering the embryo and fetus? *Reproduc Toxicol*, 2009, 28(1): 1-10
- [14] Koren G, Nava-Ocampo AA, Moretti ME, et al. Major malformations with valproic acid. *Can Fam Physician*, 2006, 52(4): 441-447
- [15] Cohen MJ, Meador KJ, Browning N, et al. Fetal antiepileptic drug exposure: adaptive and emotional/behavioral functioning at age 6years. *Epilepsy Behav*, 2013, 29(2): 308-315
- [16] Meador KJ, Baker GA, Browning N, et al. Cognitive function at 3 years of age after fetal exposure to antiepileptic drugs. *N Engl J Med*, 2009, 360(16): 1597-1605
- [17] Christensen J, Grønberg TK, Sørensen MJ, et al. Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *JAMA*, 2013, 309(16): 1696-1703
- [18] Meador KJ, Baker GA, Browning N, et al. Fetal antiepileptic drug exposure and cognitive outcomes at age 6 years (NEAD study): a prospective observational study. *Lancet Neurol*, 2013, 12(3): 244-252
- [19] Bromley RL, Mawer G, Clayton-Smith J, et al. Autism spectrum disorders following in utero exposure to antiepileptic drugs. *Neurology*, 2008, 71(23): 1923-1924
- [20] Wieck A, Jones S. Dangers of valproate in pregnancy. *BMJ*, 2018, 36: k1609
- [21] Angus-Leppan H, Liu RSN. Weighing the risks of valproate in women who could become pregnant. *BMJ*, 2018, 361: k1596
- [22] Almeida LEF, Roby CD, Krueger BK. Increased BDNF expression in fetal brain in the valproic acid model of autism. *Mol Cell Neurosci*, 2014, 59: 57-62
- [23] Benghanem S, Mazeraud A, Azabou E, et al. Brainstem dysfunction in critically ill patients. *Crit Care*, 2020, 24(1): 5
- [24] Brummelte S, Witte V, Teuchert-Noodt G. Postnatal development of GABA and calbindin cells and fibers in the prefrontal cortex and basolateral amygdala of gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Int J Dev Neurosci*, 2007, 25(3): 191-200
- [25] Chen S, Ye J, Chen X, et al. Valproic acid attenuates traumatic spinal cord injury-induced inflammation via STAT1 and NF- κ B pathway dependent of HDAC3. *J Neuroinflamm*, 2018, 15(1): 150
- [26] Dai YC, Zhang HF, Schön M, et al. Neonatal oxytocin treatment ameliorates autistic-like behaviors and oxytocin deficiency in valproic acid-induced rat model of autism. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 355
- [27] Dubiel A, Kulesza Jr RJ. Prenatal valproic acid exposure disrupts tonotopic c-Fos expression in the rat brainstem. *Neuroscience*, 2016, 324: 511-523
- [28] Ehrlich DE, Ryan SJ, Rainnie DG. Postnatal development of electrophysiological properties of principal neurons in the rat basolateral amygdala. *J Physiol*, 2012, 590(19): 4819-4838
- [29] Einat H, Yuan P, Gould TD, et al. The role of the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway in mood modulation. *J Neurosci*, 2003, 23(19): 7311-7316
- [30] Fueta Y, Sekino Y, Yoshida S, et al. Prenatal exposure to

- valproic acid alters the development of excitability in the postnatal rat hippocampus. *Neurotoxicology*, 2018, 65: 1-8
- [31] Gssowska-Dobrowolska M, Kolasa-Woosiuk A, Cielik M, et al. Alterations in tau protein level and phosphorylation state in the brain of the autistic-like rats induced by prenatal exposure to valproic acid. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6): 3209
- [32] Gifford JJ, Deshpande P, Mehta P, et al. The effect of valproic acid exposure throughout development on microglia number in the prefrontal cortex, hippocampus and cerebellum. *Neuroscience*, 2022, 481: 166-177
- [33] Ginhoux F, Lim S, Hoeffel G, et al. Origin and differentiation of microglia. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7: 45
- [34] Gonçalves JT, Schafer ST, Gage FH. Adult neurogenesis in the hippocampus: from stem cells to behavior. *Cell*, 2016, 167(4): 897-914
- [35] Hao Y, Creson T, Zhang L, et al. Mood stabilizer valproate promotes erk pathway-dependent cortical neuronal growth and neurogenesis. *J Neurosci*, 2004, 24(29): 6590-6599
- [36] Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem*, 2003, 72(1): 609-642
- [37] Hughes EM, Calcagno P, Clarke M, et al. Prenatal exposure to valproic acid reduces social responses and alters mRNA levels of opioid receptor and pre-pro-peptide in discrete brain regions of adolescent and adult male rats. *Brain Res*, 2020, 1732: 146675
- [38] Kaplan DR, Miller FD. Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol*, 2000, 10(3): 381-391
- [39] Kawada K, Mimori S, Okuma Y, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress and neurite outgrowth in the model mice of autism spectrum disorder. *Neurochem Int*, 2018, 119: 115-119
- [40] Kawanai T, Ago Y, Watanabe R, et al. Prenatal exposure to histone deacetylase inhibitors affects gene expression of autism-related molecules and delays neuronal maturation. *Neurochem Res*, 2016, 41(10): 2574-2584
- [41] Kumamaru E, Egashira Y, Takenaka R, et al. Valproic acid selectively suppresses the formation of inhibitory synapses in cultured cortical neurons. *Neurosci Lett*, 2014, 569: 142-147
- [42] Lin HC, Gean PW, Wang CC, et al. The amygdala excitatory/inhibitory balance in a valproate-induced rat autism model. *PLoS One*, 2013, 8(1): e55248
- [43] Lucchina L, Depino AM. Altered peripheral and central inflammatory responses in a mouse model of autism. *Autism Res*, 2014, 7(2): 273-289
- [44] Manent JB, Jorquera I, Mazzucchelli I, et al. Fetal exposure to GABA-Acting antiepileptic drugs generates hippocampal and cortical dysplasias. *Epilepsia*, 2007, 48(4): 684-693
- [45] Marinissen MJ, Gutkind JS. G-protein-coupled receptors and signaling networks: emerging paradigms. *Trends Pharmacol Sci*, 2001, 22(7): 368-376
- [46] Marín-Teva JL, Cuadros MA, Martín-Oliva D, et al. Microglia and neuronal cell death. *Neuron Glia Biol*, 2011, 7(1): 25-40
- [47] Markram K, Rinaldi T, Mendola DL, et al. Abnormal fear conditioning and amygdala processing in an animal model of autism. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33(4): 901-912
- [48] Nagode DA, Meng X, Winkowski DE, et al. Abnormal development of the earliest cortical circuits in a mouse model of autism spectrum disorder. *Cell Rep*, 2017, 18(5): 1100-1108
- [49] Olde Loohuis NFM, Kole K, Glennon JC, et al. Elevated microRNA-181c and microRNA-30d levels in the enlarged amygdala of the valproic acid rat model of autism. *Neurobiol Dis*, 2015, 80: 42-53
- [50] Olde Loohuis NFM, Martens GJM, van Bokhoven H, et al. Altered expression of circadian rhythm and extracellular matrix genes in the medial prefrontal cortex of a valproic acid rat model of autism. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2017, 77: 128-132
- [51] Ornoy A, Weinstein-Fudim L, Tfilin M, et al. S-adenosyl methionine prevents ASD like behaviors triggered by early postnatal valproic acid exposure in very young mice. *Neurotoxicol Teratol*, 2019, 71: 64-74
- [52] Ryan SJ, Ehrlich DE, Rainnie DG. Morphology and dendritic maturation of developing principal neurons in the rat basolateral amygdala. *Brain Struct Funct*, 2016, 221(2): 839-854
- [53] Scharfman HE, Pierce JP. New insights into the role of hilar ectopic granule cells in the dentate gyrus based on quantitative anatomic analysis and three-dimensional reconstruction. *Epilepsia*, 2012, 53: 109-115
- [54] Takuma K, Hara Y, Kataoka S, et al. Chronic treatment with valproic acid or sodium butyrate attenuates novel object recognition deficits and hippocampal dendritic spine loss in a mouse model of autism. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 126: 43-49
- [55] Tomson T, Battino D, Bonizzoni E, et al. Declining malformation rates with changed antiepileptic drug prescribing. *Neurology*, 2019, 93(9): e831-e840
- [56] Tomson T, Battino D, Perucca E. Valproic acid after five decades of use in epilepsy: time to reconsider the indications of a time-honoured drug. *Lancet Neurol*,

- 2016, 15(2): 210-218
- [57] Tsuji C, Fujisaku T, Tsuji T. Oxytocin ameliorates maternal separation-induced ultrasonic vocalisation calls in mouse pups prenatally exposed to valproic acid. *J Neuroendocrinol*, 2020, 32(4): e12850
- [58] Wang CY, Cheng CW, Wang WH, et al. Postnatal stress induced by injection with valproate leads to developing emotional disorders along with molecular and cellular changes in the hippocampus and amygdala. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(10): 6774-6785
- [59] Weeber EJ, Sweatt JD. Molecular neurobiology of human cognition. *Neuron*, 2002, 33(6): 845-848
- [60] Wei R, Li Q, Lam S, et al. A single low dose of valproic acid in late prenatal life alters postnatal behavior and glutamic acid decarboxylase levels in the mouse. *Behav Brain Res*, 2016, 314: 190-198
- [61] Yuan PX, Huang LD, Jiang YM, et al. The mood stabilizer valproic acid activates mitogen-activated protein kinases and promotes neurite growth. *J Biol Chem*, 2001, 276(34): 31674-31683
- [62] Zhang H, Lu P, Tang HL, et al. Valproate-induced epigenetic upregulation of hypothalamic *fto* expression potentially linked with weight gain. *Cell Mol Neurobiol*, 2021, 41(6): 1257-1269
- [63] Zimmerman R, Patel R, Smith A, et al. Repeated prenatal exposure to valproic acid results in auditory brainstem hypoplasia and reduced calcium binding protein immunolabeling. *Neuroscience*, 2018, 377: 53-68
- [64] Knierim JJ. The hippocampus. *Curr Biol*, 2015, 25(23): R1116-R1121
- [65] Hainmueller T, Bartos M. Parallel emergence of stable and dynamic memory engrams in the hippocampus. *Nature*, 2018, 558(7709): 292-296
- [66] Spencer RF, Baker R. GABA and glycine as inhibitory neurotransmitters in the vestibuloocular reflex. *Ann NY Acad Sci*, 1992, 656(1 Sensing and C): 602-611
- [67] Petroff OAC. Book review: GABA and glutamate in the human brain. *Neuroscientist*, 2002, 8(6): 562-573
- [68] Ojiro R, Watanabe Y, Okano H, et al. Gene expression profiles of multiple brain regions in rats differ between developmental and postpubertal exposure to valproic acid. *J Appl Toxicol*, 2022, 42(5): 864-882
- [69] Baron-Cohen S, Ring HA, Bullmore ET, et al. The amygdala theory of autism. *Neurosci Biobehav Rev*, 2000, 24(3): 355-364
- [70] Aylward EH, Minshew NJ, Goldstein G, et al. MRI volumes of amygdala and hippocampus in non-mentally retarded autistic adolescents and adults. *Neurology*, 1999, 53(9): 2145
- [71] Nacewicz BM, Dalton KM, Johnstone T, et al. Amygdala volume and nonverbal social impairment in adolescent and adult males with autism. *Arch Gen Psychiatry*, 2006, 63(12): 1417-1428
- [72] Rojas DC. Hippocampus and amygdala volumes in parents of children with autistic disorder. *Am J Psychiatry*, 2004, 161(11): 2038-2044
- [73] Palmen SJMC, van Engeland H, Hof PR, et al. Neuropathological findings in autism. *Brain*, 2004, 127(12): 2572-2583
- [74] Schumann CM, Amaral DG. Stereological analysis of amygdala neuron number in autism. *J Neurosci*, 2006, 26(29): 7674-7679
- [75] Dalton KM, Nacewicz BM, Johnstone T, et al. Gaze fixation and the neural circuitry of face processing in autism. *Nat Neurosci*, 2005, 8(4): 519-526
- [76] Weng SJ, Carrasco M, Swartz JR, et al. Neural activation to emotional faces in adolescents with autism spectrum disorders. *J Child Psychol Psychiatry*, 2011, 52(3): 296-305
- [77] Ehrlich DE, Ryan SJ, Hazra R, et al. Postnatal maturation of GABAergic transmission in the rat basolateral amygdala. *J Neurophysiol*, 2013, 110(4): 926-941
- [78] Burbridge S, Stewart I, Placzek M. Development of the neuroendocrine hypothalamus. *Compr Physiol*, 2016, 6(2): 623-643
- [79] Kuo HY, Liu FC. Molecular pathology and pharmacological treatment of autism spectrum disorder-like phenotypes using rodent models. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 422
- [80] Sharma SR, Gonda X, Tarazi FI. Autism spectrum disorder: classification, diagnosis and therapy. *Pharmacol Ther*, 2018, 190: 91-104