

• 科研论著 •

孤独症谱系障碍儿童外周血 CNR1 基因 甲基化修饰水平的研究

王峰, 刘泽慧, 张艺霖, 田文茹, 杨凌渊, 邹明扬, 孙彩虹

哈尔滨医科大学公共卫生学院儿少卫生与妇幼保健学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150081

摘要: **目的** 探讨 CNR1 基因甲基化水平与孤独症谱系障碍(ASD)间的关联, 为 ASD 的病因学研究提供理论依据。**方法** 采用病例对照研究方法, 选取 2017 年 6 月—2018 年 12 月就诊于哈尔滨医科大学儿童发育行为研究中心及康复机构的 30 名 ASD 儿童及年龄性别与之相匹配的 30 名正常儿童作为研究对象, 应用 Agena MassArray® 飞行质谱分析系统检测两组儿童 CNR1 基因的甲基化水平, 并与 ASD 发病风险及社交反应量表(SRS)得分进行关联分析。**结果** ASD 儿童 CNR1 基因启动子区平均甲基化水平($t=2.224$)、CpG_3.4($Z=2.187$)、CpG_9.10.11($t=2.308$)和 CpG_28.29($t=2.943$)位点甲基化水平均高于正常对照儿童, 差异有统计学意义($P<0.05$); 其中 CNR1 基因启动子区平均甲基化水平($OR=1.117, 95\%CI: 1.003\sim1.245$)、CpG_9.10.11($OR=1.072, 95\%CI: 1.006\sim1.142$)和 CpG_28.29($OR=1.078, 95\%CI: 1.018\sim1.141$)位点甲基化水平与 ASD 发病风险呈正相关($P<0.05$); 并且 CpG_28.29 位点甲基化水平与 SRS 量表社会动机领域评分呈正相关($r=0.421, P<0.05$)。**结论** ASD 儿童外周血中存在 CNR1 基因甲基化水平异常, 并且可能与 ASD 发病风险及社交功能具有相关性, 其作用机制值得进一步探讨。

关键词: 孤独症谱系障碍; CNR1 基因; 甲基化; 社交障碍

中图分类号: R749.94 文献标识码: A 文章编号: 1008-6579(2024)03-0237-05 doi:10.11852/zgetbjzz2023-0686

Methylation level of CNR1 in peripheral blood of children with autism spectrum disorder

WANG Feng, LIU Zehui, ZHANG Yilin, TIAN Wenru, YANG Lingyuan, ZOU Mingyang, SUN Caihong

Department of Child and Adolescent Health, Public Health College, Harbin Medical University,

Harbin, Heilongjiang 150081, China

Corresponding author: SUN Caihong, E-mail: suncaihong2003@163.com

Abstract: **Objective** To explore the relationship between the methylation level of CNR1 and autism spectrum disorder (ASD), in order to provide a theoretical basis for the etiology of ASD. **Methods** A case-control study was conducted, recruiting 30 children with ASD from the Child Development and Behavior Research Center of Harbin Medical University and a rehabilitation facility, and 30 matched typically developed children from June 2017 to December 2018. The methylation levels of CNR1 in peripheral blood were measured by the Agena MassArray® Mass Spectrometry System. A univariate conditional Logistic regression model was used to analyze the potential association between the methylation level of CNR1 and the risk of ASD with adjustment for age, BMI, body fat percentage and body fat. The correlations between the methylation level of CNR1 and the score of Social Responsiveness Scale (SRS) were evaluated by Pearson/Spearman correlation analysis. **Results** The methylation levels of the average methylation ($t=2.224$), CpG_3.4 ($Z=2.187$), CpG_9.10.11 ($t=2.308$), and CpG_28.29 ($t=2.943$) of the CNR1 promoter region in ASD children were significantly higher than controls ($P<0.05$). The methylation levels of the average methylation ($OR=1.117, 95\%CI: 1.003-1.245$), CpG_9.10.11 ($OR=1.072, 95\%CI: 1.006-1.142$), and CpG_28.29 ($OR=1.078, 95\%CI: 1.018-1.141$) of the CNR1 promoter region were positively correlated with the risk of ASD ($P<0.05$). The methylation level of CpG_28.29 in ASD children was positively correlated with the scores of social motivation in SRS ($r=0.421, P<0.05$). **Conclusions** The methylation levels of CNR1 in peripheral blood are abnormal in ASD children and might be correlated with the risk of ASD and social function. The underlying mechanism needs to be further explored.

Keywords: autism spectrum disorder; CNR1 gene; methylation; social interaction disorder

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82173535)

作者简介: 王峰(1996-), 男, 湖南人, 在读博士, 主要研究方向为儿童发育行为。

通信作者: 孙彩虹, E-mail: suncaihong2003@163.com

孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 是一组起病于婴幼儿早期的神经发育障碍性疾病, 核心症状包括社交互动障碍及重复刻板行为。近年来流行病学数据显示 ASD 发病率逐年增高, 美国 8 岁儿童中 ASD 的发病率高达 1/36^[1]。其增长速度快, 治疗手段有限, 给家庭及社会带来了沉重的经济及精神负担。目前, ASD 确切病因不明, 大量证据表明表观遗传修饰失调在 ASD 发病中发挥重要作用^[2]。表观遗传修饰是在不改变基因序列的情况下影响基因活性和功能的调控机制, 可随细胞分裂而遗传。DNA 甲基化是最主要且常见的遗传修饰, 目前的研究显示, DNA 甲基化和去甲基化的精确调节对发育早期哺乳动物神经元及神经胶质细胞的分化和成熟尤为重要^[3]。早在 20 世纪就有研究表明 *FMR1* 基因高甲基化水平可导致个体表现出生长发育迟缓、语言障碍等 ASD 样表现^[4]。*CNR1* 基因编码大麻素受体 1 (cannabinoid receptor type 1, CB1R) 参与调节神经发生、突触传递和兴奋/抑制平衡, 在维持神经元结构和功能中具有重要作用。目前已有研究发现 CB1R 缺失可导致 ASD 样异常行为^[5], 但 *CNR1* 基因甲基化水平改变是否影响 ASD 发生发展仍有待进一步研究。因此本研究以 ASD 儿童为研究对象, 使用 Agena MassArray® 飞行质谱分析系统检测 ASD 儿童和正常对照儿童 *CNR1* 基因的甲基化水平, 并分析甲基化水平改变与 ASD 社交功能的相关性, 探讨 *CNR1* 基因甲基化修饰对 ASD 发病及社交功能的影响, 以期为 ASD 病因学研究提供参考依据。

1 对象和方法

1.1 对象 收集 2017 年 6 月—2018 年 12 月在哈尔滨医科大学儿童发育行为研究中心就诊及孤独症定点康复机构接受康复训练的 ASD 儿童共 30 名, 性别均为男性。根据年龄与性别匹配的原则, 从哈尔滨市普通小学及幼儿园中随机抽取 30 名健康发育的儿童作为对照组。所有 ASD 儿童均由哈尔滨医科大学附属第一医院门诊至少两名副高级以上的精神科医生或儿科医生进行诊断, 均符合美国精神障碍诊断与统计手册(第 5 版)中 ASD 诊断标准, 同时排除患有智力发育障碍、脆性 X 染色体综合征、结节性硬化症、癫痫及其他神经系统疾病的儿童。所有儿童的父母或监护人签署知情同意书, 并经哈尔滨医科大学伦理委员会批准(HMUIRB202007)。

1.2 方法

1.2.1 ASD 儿童社交能力评估 社交反应量表

(Social Responsiveness Scale, SRS) 是常用于对 4~18 岁儿童进行 ASD 筛查的工具, 可用于描述儿童日常社交情况, 将社交能力进行量化, 信效度较好。该量表共分为 5 个维度: 社交知觉、社交认知、社交沟通、社交动机及孤独症行为方式, 得分越高, 社交问题越严重, 是筛查 ASD 儿童的有效量表。

1.2.2 DNA 提取 收集研究儿童的外周静脉血, 取全血提取 DNA。按照说明书, 采用 QIAampDNA Blood Mini Kit Q(德国 QIAGEN 公司)DNA 提取试剂盒提取 DNA, 并对其进行亚硫酸氢盐处理。

1.2.3 甲基化引物设计和合成 通过 NCBI(GRCh38, p13 版本)数据库获取 *CNR1* 基因序列, *CNR1* 基因位于 6 号染色体上, 选取 *CNR1* 基因转录起始位置上游 5 000 bp~下游 1 000 bp 序列, 位置 88165348~88171347。进行 CpG 岛预测, 针对 CpG 岛区域进行后续设计。采用 Agena EpiDesigner 程序对靶向序列进行引物方案设计, 根据软件运行结果, 选择并确定合适的引物序列, 合成带有 T7RNA 聚合酶启动子序列的引物, 5' 端引物序列 aggaagagagGTTTGGT-TAGGGTGTGAGGGTATT, 3' 端引物序列-cagtaat-acgactcactataggagaaggctCTTCCCAAACTCTTCACTA AATCCT。扩增片段大小为 1 468 bp, 设计引物位置为 chr6:88169340~88170807。

1.2.4 甲基化检测 使用 Agena MassArray® 飞行质谱分析系统检测产物, 检测结果使用 MassArray EpiTYPER® 软件(Agena, Inc)获取原始数据和圆点图, 根据含 G 峰和含 A 峰的面积比较, 计算出待检样本甲基化及非甲基化程度, 属于两者相对定量比值。检测步骤包括 PCR 扩增反应, SAP 反应, T 切/RNaseA 消化反应, 树脂纯化, 芯片点样, Massarray 分析及数据输出。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 25.0 分析 *CNR1* 基因甲基化水平和一般资料在两组儿童间的差异, 正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, *t* 检验进行组间比较; 非正态分布的计量资料采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, Mann-Whitney *U* 检验进行组间比较。采用单因素条件 Logistic 回归模型分析 *CNR1* 基因甲基化水平与 ASD 发病风险的关联。采用 Pearson/Spearman 相关分析评估 *CNR1* 基因甲基化水平与 ASD 儿童表型特征之间的相关性。所有检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的一般资料 两组儿童性别、年龄、身高及体重比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

对两组儿童进行体成分比较,结果显示两组儿童体质量指数(body mass index,BMI)差异无统计学意义($P>0.05$),但 ASD 组儿童体脂率及体脂量均显著高于对照组儿童,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 ASD 组和对照组的基线资料比较[$M(P_{25},P_{75})$]

Tab. 1 Comparison of baseline data between ASD group and control group[$M(P_{25},P_{75})$]

基本特征	ASD 组($n=30$)	对照组($n=30$)	t/Z 值	P 值
性别(男, $n, \%$)	30(100.0)	30(100.0)	—	—
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	4.8 $\pm$ 0.8	4.9 $\pm$ 0.8	0.116 ^a	0.908
身高(cm, $\bar{x} \pm s$)	111.2 $\pm$ 6.8	110.0 $\pm$ 8.2	0.623 ^a	0.536
体重(kg)	20.1(18.4,23.5)	18.8(17.1,20.6)	1.739 ^b	0.082
BMI(kg/m ²)	17.0(15.3,18.5)	15.5(14.9,16.6)	1.788 ^b	0.074
体脂率($\%$)	24.2(20.5,29.8)	21.0(17.3,23.1)	2.468 ^b	0.014
体脂量(kg)	5.2(3.3,7.1)	3.9(2.9,4.9)	2.174 ^b	0.030

注:^a t 值,^b Z 值。

表 2 ASD 组与对照组 CNR1 基因启动子区 CpG 位点甲基化水平[$M(P_{25},P_{75})$]

Tab. 2 Level of methylation of CpG sites in CNR1 promoter regions in the ASD and control group[$M(P_{25},P_{75})$]

位点	ASD 组($n=28$)	对照组($n=30$)	Z/t 值	P 值
CpG_3.4	0.110(0.050,0.150)	0.070(0.030,0.100)	2.187 ^a	0.029
CpG_5.6.7.8	0.140(0.090,0.360)	0.1050(0.060,0.198)	1.743 ^a	0.081
CpG_9.10.11($\bar{x} \pm s$)	0.291 $\pm$ 0.134	0.213 $\pm$ 0.107	2.308 ^b	0.025
CpG_17.18.19	0.025(0.010,0.060)	0.020(0.018,0.030)	0.873 ^a	0.382
CpG_20.21	0.030(0.010,0.060)	0.020(0.008,0.040)	1.361 ^a	0.174
CpG_27	0.145(0.000,0.301)	0.160(0.000,0.3600)	0.032 ^a	0.975
CpG_28.29($\bar{x} \pm s$)	0.525 $\pm$ 0.160	0.419 $\pm$ 0.109	2.943 ^b	0.005
CpG_33($\bar{x} \pm s$)	0.297 $\pm$ 0.339	0.281 $\pm$ 0.341	0.160 ^b	0.874
CpG_35.36	0.010(0.000,0.060)	0.020(0.000,0.040)	0.481 ^a	0.631
CpG_39($\bar{x} \pm s$)	0.297 $\pm$ 0.339	0.281 $\pm$ 0.341	0.160 ^b	0.874
CpG_40.41.42.43($\bar{x} \pm s$)	0.052 $\pm$ 0.048	0.040 $\pm$ 0.025	1.227 ^b	0.225
Mean($\bar{x} \pm s$)	0.160 $\pm$ 0.070	0.120 $\pm$ 0.050	2.224 ^b	0.030

注:^a Z 值,^b t 值。

表 3 CNR1 基因启动子区甲基化水平与 ASD 发病风险的关联性分析

Tab. 3 Association between the level of methylation in CNR1 promoter regions and the risk of developing ASD

位点	β 值	S_e 值	Wald χ^2 值	OR 值(95%CI)	P 值
CpG_3.4	0.068	0.047	2.114	1.070(0.977~1.172)	0.146
CpG_9.10.11	0.070	0.032	4.667	1.072(1.006~1.142)	0.031
CpG_28.29	0.075	0.029	6.651	1.078(1.018~1.141)	0.010
Mean	0.111	0.055	4.040	1.117(1.003~1.245)	0.044

化水平与 SRS 中社会知觉、社会认知、社会沟通及孤独症行为方式维度间均无明显相关性($P>0.05$),CpG_28.29 位点与社会动机领域评分呈正相关($P<0.05$)。见表 4。

3 讨论

CNR1 基因位于染色体 6q15 区域,其编码的 CB1R 主要定位于突触前膜,广泛分布于海马、基底

2.2 CNR1 基因启动子区甲基化水平的差异 除 2 例 ASD 儿童甲基化未检测成功外,其余 28 例 ASD 组儿童 CNR1 基因启动子区平均甲基化水平、CpG_3.4、CpG_9.10.11 和 CpG_28.29 位点甲基化水平均显著高于对照组($P<0.05$)。见表 2。

2.3 CNR1 基因启动子区甲基化水平与 ASD 发病风险关联分析 对有差异的甲基化位点进行进一步分析,以是否患有 ASD 为因变量(是=1,否=0),以 CNR1 基因启动子区甲基化水平为自变量,将年龄、BMI、体脂率、体脂量作为调整变量纳入模型,分析发现 CNR1 基因启动子区平均甲基化水平、CpG_9.10.11 和 CpG_28.29 位点甲基化水平与 ASD 发病风险呈正相关($P<0.05$)。见表 3。

2.4 CNR1 基因启动子区甲基化水平与 ASD 表型的关联分析 ASD 儿童 CNR1 基因启动子区甲基

节、大脑皮层、杏仁核、下丘脑等多个脑区,是大脑中表达最丰富的 G 蛋白偶联受体之一^[6]。CB1R 在新生儿出生后第 5~7 天的大脑中就丰富表达,当 CB1R 被内源性配体激活后,可抑制谷氨酸、 γ -氨基丁酸等神经递质的释放,调节突触间信号传递,从而在维持神经发育及功能连接中具有重要作用^[7-8]。目前有研究显示,脑内 CB1R 过度激活可导致小鼠神经发生障碍,突触可塑性受损,兴奋性突触后电位

表 4 ASD 儿童 CNR1 基因启动子区甲基化水平与 SRS 量表得分的相关性(r)Tab. 4 Correlation between the level of methylation in CNR1 promoter regions and SRS score (r)

位点	SRS 维度					
	社交知觉	社交认知	社交沟通	社交动机	孤独症行为方式	总分
CpG_3.4	-0.124	0.177	0.049	0.123	0.143	0.087
CpG_9.10.11	0.073	0.294	0.072	0.420	0.290	0.271
CpG_28.29	-0.146	0.401	0.191	0.421 *	0.378	0.335
Mean	-0.064	0.220	0.167	0.402	0.327	0.286

注: * $P < 0.05$ 。

及长时程增强的发生障碍^[9-10]。但也有研究发现 CNR1 基因敲除(CB1 KO)鼠脑内存在多巴胺能神经元发育异常以及兴奋性/抑制性突触失衡^[7]。特异性敲除小鼠海马区 CB1R,可导致海马区老龄化改变,神经元密度减低,细胞增殖减慢^[11]。鉴于 CNR1 基因及其编码的 CB1R 主要参与调控中枢神经系统发育、结构及功能,推测 CNR1 基因可能在 ASD 发病中发挥重要作用。本研究首次在人群样本中探讨了 CNR1 基因与 ASD 间的相关性,并发现 CNR1 基因甲基化水平升高可增加 ASD 发病风险及社交障碍。

3.1 ASD 儿童外周血存在 CNR1 基因甲基化水平改变 本研究通过检测 ASD 儿童和正常儿童外周血中的 CNR1 基因甲基化水平,发现与正常儿童相比,ASD 儿童外周血 CNR1 基因甲基化水平显著升高,并且与 ASD 发病风险呈正相关。目前对 ASD 中 CNR1 基因甲基化水平的相关研究有限,但在其他精神类疾病中已有初步发现。在精神分裂症患者患者中发现其外周血单核细胞中 CNR1 基因甲基化水平下调^[12]。在重度抑郁症患者中发现 CNR1 基因多态性改变可增加抑郁症发病风险^[13],由此可见,CNR1 基因在调控精神类疾病中具有重要作用。此外,动物研究发现 ASD 模型鼠脑内存在 CB1R 表达及功能异常。本课题组及 Zamberletti 团队^[14-15]的研究显示丙戊酸钠诱导的 ASD 模型鼠(环境诱导 ASD 模型)和 MeCP2 模型鼠(单基因遗传型 ASD 模型鼠)脑内 CB1R 表达水平均较正常对照鼠显著升高。进一步研究发现,与正常对照鼠相比,多基因遗传型 ASD 模型鼠脑内 CB1R 活性显著上调^[16]。体外研究也同样发现单基因遗传型 ASD 模型鼠原代神经元中的 CB1R 反应敏感性降低^[17]。已知 CNR1 基因在能量代谢的过程中同样具有关键作用^[18],因此本研究在探讨 CNR1 基因甲基化水平和 ASD 发病风险间的关系时校正了 BMI、体脂率、体脂量等混杂因素,以排除能量代谢相关指标对结果的影响。排除混杂因素后,外周血 CNR1 基因甲基化水平升高仍可增加 ASD 发病风险。上述研究均

提示 ASD 中存在 CNR1 基因及其编码的 CB1R 表达异常,并且与 ASD 的发生发展紧密关联。

3.2 CNR1 基因甲基化水平改变加重 ASD 儿童社交功能障碍 社交功能障碍是 ASD 的核心症状之一,严重影响 ASD 儿童的社会功能,本研究发现 CNR1 基因甲基化水平与社交能力显著相关,ASD 儿童外周血 CNR1 基因甲基化程度越高,患者的社交动机缺陷越严重。Chakrabarti 等^[19]同样在人群研究中发现 CNR1 基因单核苷酸多态性改变与 ASD 儿童对社会刺激的反应减弱相关。在动物研究中发现 CB1R 受体拮抗剂可导致正常卷尾猴表现出社会交往障碍^[20]。在 ASD 动物模型(BTBR 鼠和 Shank3 KO 鼠)中同样发现,激活 CB1R 可以使模型鼠在三箱实验中具有较好的社交行为,若阻断 CB1R 可以消除药物对模型鼠社交缺陷的改善作用^[21-22]。在 CNR1 基因敲除鼠中发现与正常对照鼠相比,CB1 KO 鼠表现出超声发生减少,社交兴趣减低,直接社交互动减少等明显的 ASD 样社交缺陷^[5]。更有学者深入研究发现条件性敲除谷氨酸能神经元(兴奋性神经元)CB1R 的小鼠表现出社交缺陷,而条件性敲除 γ -氨基丁酸能神经元(抑制性神经元)CB1R 的小鼠未见明显社交障碍,表明兴奋性/抑制性神经元中的 CB1R 的作用并不完全一致^[23]。因此,后续研究需继续深入探讨不同神经元的 CB1R 在 ASD 发病机制中的作用。

3.3 局限性 本研究采用通过病例-对照的研究方法,首次发现 ASD 儿童 CNR1 基因甲基化水平明显升高,并且与 ASD 发病风险及社交缺陷呈正相关。但本文仍存在一些局限性:首先,DNA 甲基化水平受早期生活经历、环境暴露或营养状况等因素的影响,在后续研究中应进一步控制影响因素,并扩大采样范围^[24];其次,全血 DNA 样本包含人体内多种组织细胞,每种细胞具有不同的 CNR1 基因甲基化表达谱,在后续研究中通过细胞筛选技术分离出特定细胞进行甲基化水平比较,对筛选 ASD 临床生物标志物更有指导意义;最后,本研究仅使用人群作为研究对象,后续研究将在动物模型中进行验证,并深入

探讨 CNR1 基因甲基化水平改变对 ASD 发病及社交功能影响的具体机制。

参考文献

- [1] Maenner MJ, Warren Z, Williams AR, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years-Autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2020[J]. MMWR Surveill Summ, 2023, 72(2): 1-14.
- [2] Srancikova A, Bacova Z, Bakos J. The epigenetic regulation of synaptic genes contributes to the etiology of autism[J]. Rev Neurosci, 2021, 32(7): 791-802.
- [3] Levy MA, Relator R, Mcconkey H, et al. Functional correlation of genome-wide DNA methylation profiles in genetic neurodevelopmental disorders[J]. Hum Mutat, 2022, 43(11): 1609-1628.
- [4] Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome[J]. Cell, 1991, 65(5): 905-914.
- [5] Fyke W, Premoli M, Echeverry Alzate V, et al. Communication and social interaction in the cannabinoid-type 1 receptor null mouse: Implications for autism spectrum disorder[J]. Autism Res, 2021, 14(9): 1854-1872.
- [6] Lutz B. Neurobiology of cannabinoid receptor signaling[J]. Dialogues Clin Neuro, 2022, 22(3): 207-222.
- [7] Crittenden JR, Yoshida T, Venu S, et al. Cannabinoid receptor 1 is required for neurodevelopment of striosome-dendron bouquets[J]. eNeuro, 2022, 9(2): ENERO. 0318-21. 2022.
- [8] Zou M, Li D, Li L, et al. Role of the endocannabinoid system in neurological disorders[J]. Int J Dev Neurosci, 2019, 76: 95-102.
- [9] Forte N, Boccella S, Tunisi L, et al. Orexin-A and endocannabinoids are involved in obesity-associated alteration of hippocampal neurogenesis, plasticity, and episodic memory in mice[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 6137.
- [10] Sitzia G, Abrahao KP, Liput D, et al. Distinct mechanisms of CB1 and GABA(B) receptor presynaptic modulation of striatal indirect pathway projections to mouse globus pallidus[J]. J Physiol, 2023, 601(1): 195-209.
- [11] Palmisano M, Gargano A, Olabiyi BF, et al. Hippocampal deletion of cB1 receptor impairs social memory and leads to age-related changes in the hippocampus of adult mice[J]. Int J Mol Sci, 2022, 24(1): 26.
- [12] D'addario C, Micale V, Di Bartolomeo M, et al. A preliminary study of endocannabinoid system regulation in psychosis: Distinct alterations of CNR1 promoter DNA methylation in patients with schizophrenia[J]. Schizophr Res, 2017, 188: 132-140.
- [13] Yang C, Nolte IM, Ma Y, et al. The associations of CNR1 SNPs and haplotypes with vulnerability and treatment response phenotypes in Han Chinese with major depressive disorder: A case-control association study[J]. Mol Genet Genomic Med, 2021, 9(9): e1752.
- [14] Zou M, Liu Y, Xie S, et al. Alterations of the endocannabinoid system and its therapeutic potential in autism spectrum disorder[J]. Open Biol, 2021, 11(2): 200306.
- [15] Zamberletti E, Gabaglio M, Piscitelli F, et al. Cannabidiol completely rescues cognitive deficits and delays neurological and motor defects in male Mecp2 mutant mice[J]. J Psychopharmacol, 2019, 33(7): 894-907.
- [16] Gould GG, Burke TF, Osorio MD, et al. Enhanced novelty-induced corticosterone spike and upregulated serotonin 5-HT1A and cannabinoid CB1 receptors in adolescent BTBR mice[J]. Psychoneuroendocrinology, 2014, 39: 158-169.
- [17] Straiker A, Min KT, Mackie K. Fmr1 deletion enhances and ultimately desensitizes CB(1) signaling in autaptic hippocampal neurons[J]. Neurobiol Dis, 2013, 56: 1-5.
- [18] Behl T, Chadha S, Sachdeva M, et al. Understanding the possible role of endocannabinoid system in obesity[J]. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2021, 152: 106520.
- [19] Chakrabarti B, Baron-Cohen S. Variation in the human cannabinoid receptor CNR1 gene modulates gaze duration for happy faces[J]. Mol Autism, 2011, 2(1): 10.
- [20] Gonczarowska N, Tomaz C, Caixeta FV, et al. CB1 receptor antagonism in capuchin monkeys alters social interaction and aversive memory extinction[J]. Psychopharmacology (Berl), 2019, 236(12): 3413-3419.
- [21] Wei D, Dinh D, Lee D, et al. Enhancement of anandamide-mediated endocannabinoid signaling corrects autism-related social impairment[J]. Cannabis Cannabinoid Res, 2016, 1(1): 81-89.
- [22] Poleg S, Kourieh E, Ruban A, et al. Behavioral aspects and neurobiological properties underlying medical cannabis treatment in Shank3 mouse model of autism spectrum disorder[J]. Transl Psychiatry, 2021, 11(1): 524.
- [23] De Giacomo V, Ruehle S, Lutz B, et al. Cell type-specific genetic reconstitution of CB1 receptor subsets to assess their role in exploratory behaviour, sociability, and memory[J]. Eur J Neurosci, 2022, 55(4): 939-951.
- [24] Tammen SA, Friso S, Choi SW. Epigenetics: The link between nature and nurture[J]. Mol Aspects Med, 2013, 34(4): 753-764.

收稿日期:2023-07-17 修回日期:2023-09-26 本文编辑:王悦