DOI:10.16016/j.2097-0927.202107039

MeCP2 自闭小鼠发育过程中的听觉脑干反应

闫素梅[1],钱绍文[1],胡先丽[1],庞瑞旗[1,2],石峙岳[1,3],周 艺[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)基础医学院神经生物学教研室[1]; 530004 南宁,广西大学脑与智能研究中心[2]; 857000 西藏 日喀则,陆军第 953 医院外科[3]

[**摘要**] **目的** 探索甲基-CpG 结合蛋白 2(methyl CpG binding protein 2, MeCP2)过表达小鼠(MeCP2-Tg1,自闭模型小鼠)发育过程中的听力变化。**方法** 在 8 周和 14 周对 MeCP2-Tg1 小鼠(Tg1 组)和 WT 小鼠(WT 组)进行三箱社交行为测试,检测 MeCP2-Tg1 小鼠的社交功能。在社交行为异常发生前后的 5 个发育节点(4、8、12、16、20 周)记录 click 及纯音刺激诱发的听觉脑干电位,评估不同发育阶段 Tg1 小鼠的听力敏感性(阈值)、神经传导速度(潜伏期)和反应强度(波幅)。**结果** ①与 WT 组相比,Tg1 组小鼠在 4 周和 12 周对 24 kHz 纯音刺激表现出更高的敏感性($P<0.05$),20 周时对 8 kHz 纯音刺激表现出更低的阈值($P<0.05$),但阈值降低现象在发育进程中并不持续。②Tg1 组小鼠在整个发育过程中的神经传导速度正常。③与 WT 组相比,Tg1 组小鼠表征上橄榄核的Ⅲ波幅值在 8 周(含)之前正常,但 12 周(含)之后表现出显著的持续性升高($P<0.05$);表征听觉下丘的Ⅴ波幅值在 8 周(含)之前显著偏低($P<0.05$),但 12 周及之后则恢复正常。**结论** MeCP2-Tg1 小鼠听觉脑干反应在发育过程中出现异常,主要表现为在不同发育时期对声刺激反应幅度的增高/降低,且听力异常的发生早于社交行为异常发生。

[**关键词**] 自闭症谱系障碍;听力异常;听觉脑干诱发电位;甲基-CpG 结合蛋白 2
[**中图法分类号**] R338.8; R339.16; R749.94 [**文献标志码**] A

Auditory brainstem responses during development of MeCP2 autistic mice

YAN Sumei[1], QIAN Shaowen[1], HU Xianli[1], PANG Ruiqi[1,2], SHI Zhiyue[1,3], ZHOU Yi[1] [1]Department of Neurobiology, College of Basic Medical Sciences, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [2]Advanced Institute for Brain and Intelligence, Guangxi University, Nanning, Guangxi Zhuang Autonomous Region, 530004; [3]Department of Surgery, No. 953 Hospital of PLA, Shigatse, Tibet Autonomous Region, 857000, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the hearing changes in an autism model mice [MeCP2-Tg1 mice, with overexpression of methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2)] during development. **Methods** Three-chamber social test was used to assess the social ability of MeCP2-Tg1 mice and wild-type mice at 8 and 14 weeks after born. Auditory brainstem responses evoked by click and pure tone stimulus were recorded at 5 development nodes (4, 8, 12, 16 and 20 weeks) before and after the onset of abnormal social behaviors to assess hearing sensitivity (threshold), neural conduction velocity (latency) and response level (amplitude) in MeCP2-Tg1 mice at different developmental stages. **Results** ①Tg1 mice showed higher sensitivity to 24 kHz stimulus at 4 and 12 weeks ($P<0.05$), and lower hearing threshold to 8 kHz stimulus at 20 weeks as compared with wild-type mice ($P<0.05$), but the threshold reduction did not persist over the course of development. ②Tg1 mice had normal neural conduction velocity throughout development. ③ Compared with

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(31970932,31771152)
[**通信作者**] 周 艺,E-mail: zhouyisjtu@gmail.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

the wild-type mice, the amplitude of wave Ⅲ, which characterizes the superior olivary complex, was normal up to 8 weeks (inclusive) but showed a significant and persistent increase after 12 weeks (inclusive) ($P<0.05$); the amplitude of wave V, which characterizes the auditory inferior colliculus, was significantly lower up to 8 weeks (inclusive) ($P<0.05$) but showed normal after 12 weeks (inclusive). **Conclusion** The auditory brainstem responses of MeCP2-Tg1 mice are abnormal during development, mainly in the form of increased/decreased amplitude of responses to acoustic stimuli at different developmental periods, and the onset of hearing abnormalities precedes the onset of social behavior abnormalities.

[**Key words**] autism spectrum disorder; hearing abnormality; auditory brainstem response; methyl-CpG binding protein 2

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (31970932, 31771152). Corresponding author: ZHOU Yi, E-mail: zhouyisjtu@gmail.com

自闭症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)是一种由多种因素诱发的神经发育疾病。此前对自闭症的研究多集中在与该病症相关的社交、沟通和认知困难上。自最新版自闭症诊断标准(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM-Ⅴ)[1]将非典型感觉异常纳入现行 ASD 诊断标准以来,越来越多的研究开始关注 ASD 患者的感觉体验[2]。ASD 个体的感觉异常非常广泛,涉及对各种感觉输入的超敏(过度反应)和失敏(反应不足)[2-3]。听觉作为人体最重要的一种感觉功能,其发育进程在患有自闭症谱系障碍的个体中被改变[4],并最终导致患者出现长期的听觉处理异常[5]。通过对 ASD 个体的听觉脑干诱发电位(auditory brainstem response, ABR)分析发现,其听觉中枢系统在处理声音基本特征时存在缺陷[6],例如神经传递延迟[7-8]。在自闭小鼠模型中,也发现其听觉脑干存在功能缺陷[9-10]。例如,ROTSCHAFER 等[11]报道 Fmr1 KO 自闭模型小鼠对 click 和纯音刺激的反应阈值升高,反应水平降低,并且腹侧耳蜗核和梯形体内侧核神经元胞体减小。但由于缺少对 ASD 患者和动物模型进行长期跟随研究,目前尚不清楚 ASD 个体听觉脑干功能障碍在发育过程中的变化轨迹,特别是自闭症核心症状出现前后的改变。

甲基-CpG 结合蛋白 2(methyl CpG binding protein 2, MeCP2)对于维持成熟神经元正常功能至关重要[12],其表达异常与多种神经系统疾病有关[13]。在人类中,MeCP2 基因过量表达会导致神经精神症状,如智力低下和自闭样行为等。类似的,MeCP2 在小鼠中过度表达也会导致神经行为障碍、树突异常和突触缺陷[14]。MeCP2 过表达小鼠(MeCP2-Tg1)是一种目前被广泛使用的自闭症小鼠模型。本研究分别在社交行为异常出现之前(出生后第 8 周)和之后(出生后第 14 周)[15]测试 MECP2-Tg1 小鼠的社交表现,通过对 5 个发育节点(4、8、12、16、20 周)的 ABR 记录和分析,探究发育过程中 MeCP2 过表达小鼠的听觉脑干功能变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

FVB 背景 MeCP2-Tg1 雄鼠由中科院上海生命科学研究院神经科学研究所仇子龙课题组惠赠,源于 Jackson Laboratory(stock number: 008679)。本实验遵循《实验动物保护条例》,实验动物饲养于清洁级动物房内,12 h 光/暗循环(07:00 亮灯),随意进食和饮水。通过使 MeCP2-Tg1 雄性与 FVB 野生型雌性合笼来维持小鼠种系繁殖。实验中所用动物全部为雄性,实验组(Tg1)为 MeCP2-Tg1 小鼠,对照组(WT)小鼠为 MeCP2-Tg1 同窝的阴型小鼠。由于整个实验周期较长(从 4 周到 20 周),个别动物出现死亡现象(Tg1 小鼠 3 只,WT 小鼠 1 只),ABR 数据以第 20 周动物样本量统计计算(表 1)。

表 1 不同发育时期 Tg1 组和 WT 组小鼠样本量及体质量

年龄	基因型	样本量	体质量($\bar{x}\pm s$)/g
4 周	Tg1	13	20.61±1.85
	WT	14	21.50±2.02
8 周	Tg1	13	25.98±1.65
	WT	14	26.26±2.31
12 周	Tg1	11	27.94±2.13
	WT	13	27.89±2.40
16 周	Tg1	11	29.87±2.32
	WT	13	29.73±2.09
20 周	Tg1	10	30.10±2.64
	WT	13	29.83±2.66

1.2 方法

1.2.1 三箱行为学实验 社交互动缺陷是自闭症核心的表现之一,因此采用三箱社交行为测试系统(上海欣软)测试动物在 8 周(发病前)和 14 周(发病后)时的社交表现。实验中的“陌生鼠”为与测试鼠同

等年龄的雄性 FVB 小鼠,并在测试之前彼此陌生。提前 5 d 将“陌生鼠”放入笼里,每天适应 30 min。实验开始前,先将待测小鼠放入行为测试室适应 30 min。实验开始,将测试小鼠放进中间隔室适应,并关闭通往左右隔室的门。5 min 后,将“陌生鼠 1”随机放进左侧或右侧隔室里的笼子,并打开双侧隔间的小门,使测试小鼠可以在 3 个箱体中自由活动。10 min 后,将“陌生鼠 2”放入另一侧的空笼子中,再记录 10 min。实验中由软件自动统计分析小鼠在每个箱中的停留、嗅探时间并生成热图。每只小鼠测试完毕清洗实验环境并用 75%的酒精擦拭以防止气味残留。嗅探时间以动物头部进入笼子周围 3 cm 范围计算。

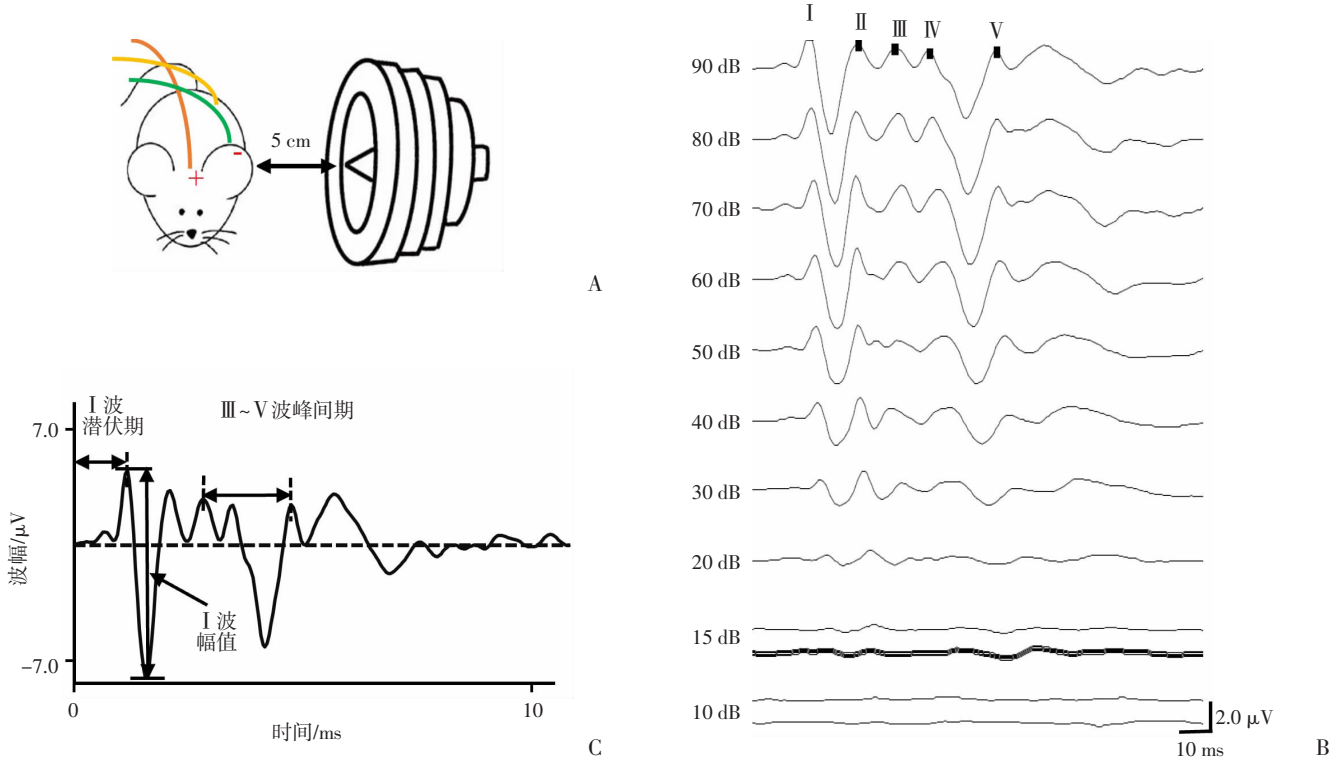
1.2.2　听觉脑干诱发电位记录　　将小鼠用盐酸氯胺酮(45 mg/kg,重庆药友)和甲苯噻嗪(6.4 mg/kg,美国 Sigma 公司)混合液腹腔注射麻醉。用镊子夹动物的后肢无收缩则认为麻醉适度。在 ABR 记录期间,使用恒温加热毯维持动物肛温在(38±1)℃。扬声器(MF1,美国 TDT 公司)置于动物左耳 5 cm 处(与校音条件一致),见图 1A。

为了确保刺激频率和强度准确,每次实验前先使用科研级传声器(Model 2850,丹麦 B&K 公司)对发生系统(RZ6, 美国 TDT 公司)进行校准。Click 刺激从 90 dB 开始到 10 dB,以 10 dB 的步长递减。纯音测试频率 5 个(4、8、16、24、32 kHz)从 90 dB 到 10 dB,以 10 dB 步长递减。接近阈值时,步长调整为 5 dB 并在阈值上下 5 dB 重复测试 2 次以最终确定阈值(图 1B)。待测试结束后,将动物置于恒温毯上恢复并送回饲养。

小鼠的 ABR 由 5 个突出的特征波组成,分别代表听神经(Ⅰ波)、耳蜗核(Ⅱ波)、上橄榄复合体(Ⅲ波)、外侧丘系(Ⅳ波)和下丘(Ⅴ波)的神经同步活动。其中Ⅰ、Ⅲ、Ⅴ波对研究自闭症谱系个体有重要的临床意义。参考以往文献[16]报道,选取 70 dB click 诱发的波形分析潜伏期、峰间期和波幅。阈值定义为可以辨别出任何特征波的最低强度。波峰潜伏期定义为刺激开始与波峰之间的间隔,峰间期定义为两个波峰之间的间隔。波幅定义为波峰与波谷之间的幅度差(图 1C)。

1.3　统计学分析

使用 GraphPad Prism 8.0.2 和 SPSS 20.0 统计软件进行制图及数据分析。实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。三箱社交实验箱体时间统计用单因素方差分析,事后多重比较选择 Bonferroni 校正,嗅探时间的组内统计采用配对 t 检验,组间对比使用独立样本 t 检验。对 ABR 各项指标的数据分析采用两因素重复测量方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$。



A:扬声器和 ABR 记录电极的定位;B:成年 Tg1 小鼠 click 刺激的 ABR 波形及确定阈值;C:ABR 特征波峰间期、潜伏期和幅值的测量

图 1　ABR 记录及测量方法

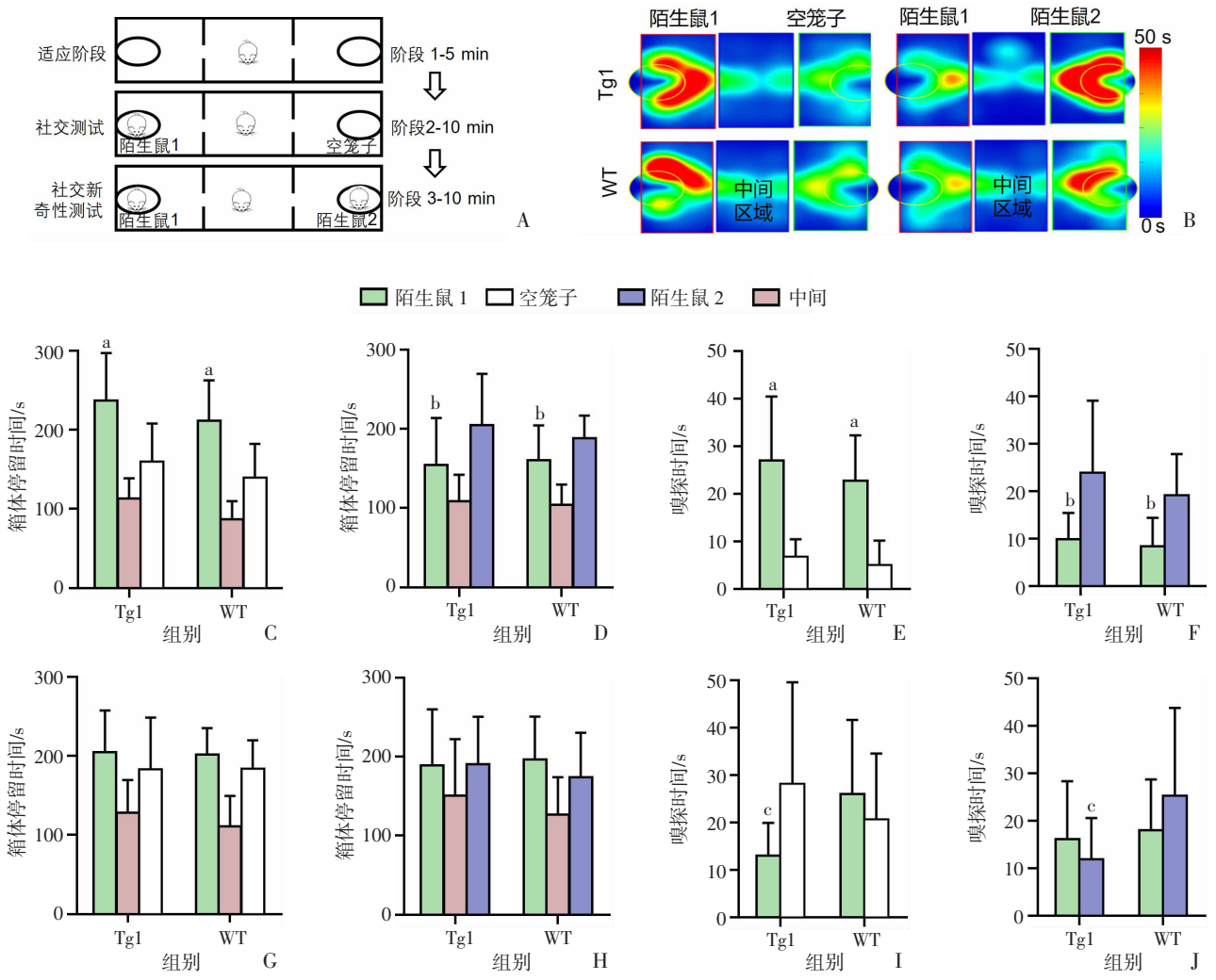
2 结果

2.1 MeCP2-Tg1 小鼠在 14 周表现出社交功能受损

三箱社交行为测试示例见图 2A、B。实验结果显示:8 周时,Tg1 小鼠和 WT 小鼠在社交实验和社交新奇性测试中表现出明显的社交偏好(图 2C~F)。14 周时,Tg1 小鼠和 WT 小鼠在社交实验和社交新奇性检测中,无论是箱体时间(图 2G、H)还是嗅探时间(图 2I、J)都表现出社交偏好消失。与 WT 小鼠相比,Tg1 小鼠社交功能缺陷更为严重。

2.2 MeCP2-Tg1 小鼠具有非典型的听觉阈值

为确定 Tg1 小鼠在整个发育过程中的听力敏感性是否存在异常,检测两组动物在 5 个发育时期(4、8、12、16、20 周)click 和纯音刺激诱发的 ABR 阈值。与 WT 组相比,Tg1 小鼠在 4 周和 12 周对 24 kHz 刺激表现出更高的敏感性(即更低的阈值)(图 3A、C)。20 周时,Tg1 小鼠和 WT 组相比,对 8 kHz 的纯音表现出更低的听力阈值(图 3E)。其他时期两组动物没有差异性表现(图 3B、D)。结果表明,Tg1 小鼠体内 MeCP2 蛋白的过表达会导致动物在某些发育节点对特定的频率更加敏感,但总体上没有影响小鼠的听力敏感性。



A:实验流程图;B:社交测试阶段(左)和社交新奇性测试阶段(右)三箱行为学热图示例 颜色越接近红色代表停留时间越长,越接近蓝色代表停留时间越短;C、D:8 周时,小鼠在社交测试阶段(C)和社交新奇性测试阶段(D)箱体停留时间 a:$P<0.05$,与空笼子比较;b:$P<0.05$,与陌生鼠 2 比较;E、F:8 周时,小鼠在社交测试阶段(E)和社交新奇性测试阶段(F)的嗅探时间 a:$P<0.01$,与空笼子比较;b:$P<0.05$,与陌生鼠 2 比较;G、H:14 周时,小鼠在社交测试阶段(G)和社交新奇性测试阶段(H)箱体停留时间;I、J:14 周时,小鼠在社交测试阶段(I)和社交新奇性测试阶段(J)的嗅探时间 c:$P<0.05$,与 WT 组比较

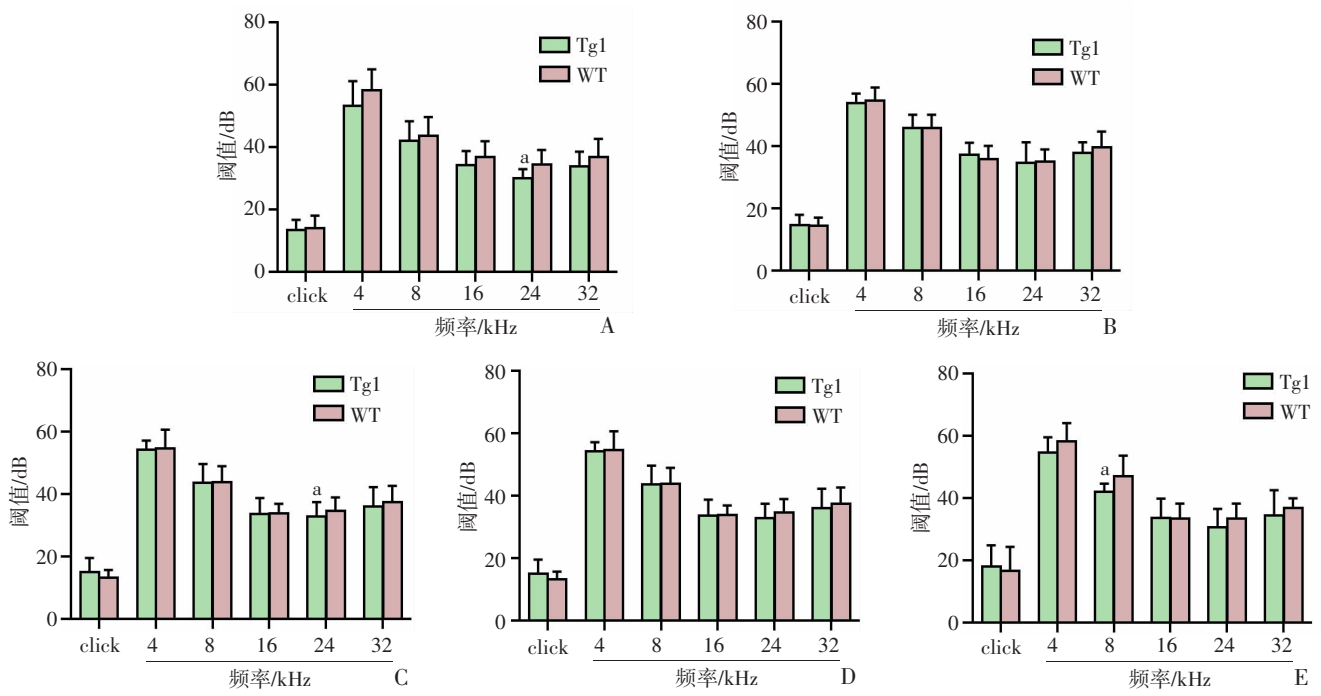
图 2 三箱行为学实验检测两组小鼠社交功能

2.3　MeCP2-Tg1 小鼠潜伏期和波峰间期正常

在整个发育过程中Ⅰ~Ⅲ、Ⅲ~Ⅴ和Ⅰ~Ⅴ波的峰间期在 Tg1 小鼠和 WT 组间差异无统计学意义。对Ⅰ、Ⅲ、Ⅴ波的绝对潜伏期分析发现,两组动物在整个发育过程差异均无统计学意义(图 4)。结果提示,在 Tg1 小鼠的整个发育过程中,从Ⅰ波所代表的听神经到Ⅴ波所代表的下丘,神经传导速度没有异常。

2.4　MeCP2-Tg1 小鼠对声反应幅值出现异常

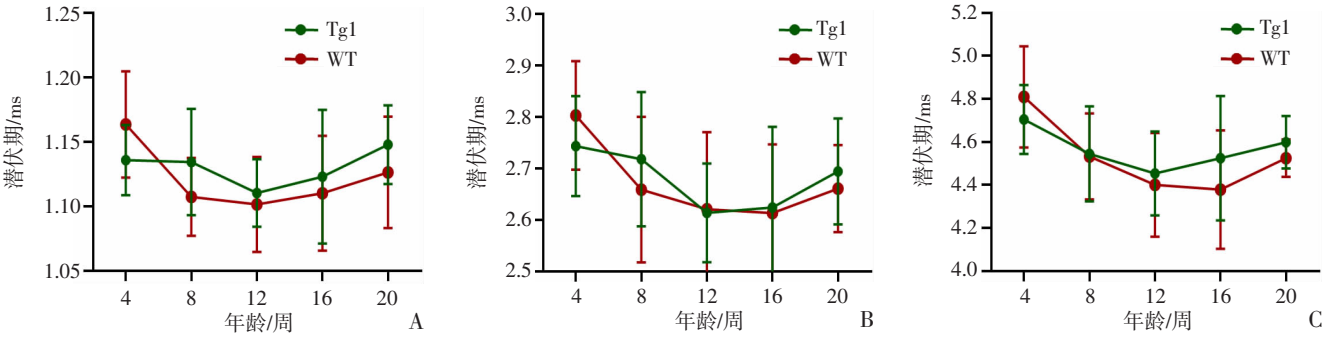
在全部的 5 个发育节点,Tg1 小鼠Ⅰ波幅值与 WT 组相比均无异常(图 5A)。Ⅲ波的幅值变化较为复杂:在发育早期即 4~8 周时,两组动物间没有差异;从 12 周开始,Tg1 小鼠的Ⅲ波幅值比 WT 组显著增大(图 5B),但没有发现年龄与基因型的交互作用(F=1.059,P=0.382)。对于Ⅴ波,Tg1 小鼠的幅值在 4~8 周时明显低于 WT 小鼠,但这种差异在 12 周之后消失(图 5C),没有发现年龄与基因型的交互作用(F=1.662,P=0.166)。



a:P<0.05,与 WT 组比较

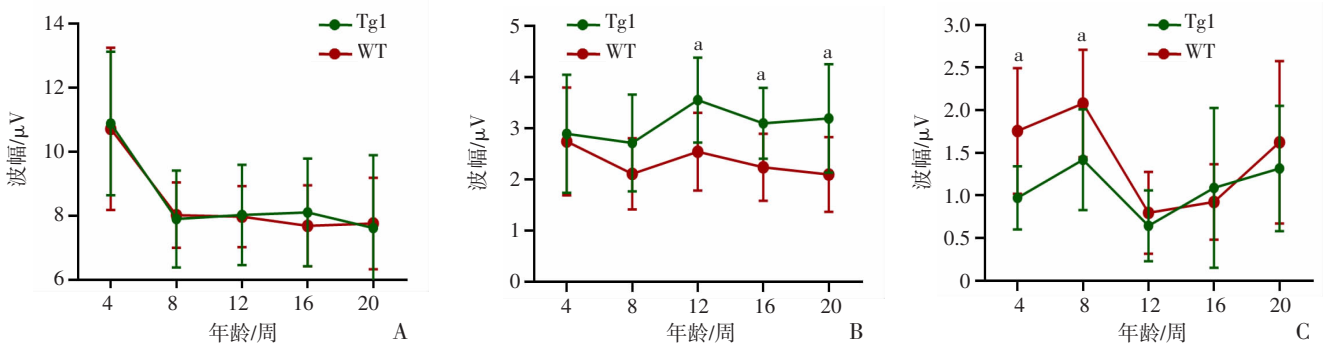
A:4 周;B:8 周;C:12 周;D:16 周;E:20 周

图 3　不同时间节点 click 和纯音刺激诱发的 ABR 阈值分析



A:Ⅰ波;B:Ⅲ波;C:Ⅴ波

图 4　Tg1 小鼠和 WT 组Ⅰ、Ⅲ、Ⅴ波的绝对潜伏期在整个发育过程中(4~20 周)的变化



a:$P<0.05$,与 WT 组比较

A:Ⅰ波;B:Ⅲ波;C:Ⅴ波

图 5 Tg1 小鼠和 WT 组Ⅰ、Ⅲ、Ⅴ波幅值在整个发育过程中(4~20 周)变化

3 讨论

社交功能障碍是自闭症最典型的行为特征之一。本研究通过三箱社交行为学测试发现:8 周时 Tg1 小鼠表现出正常的社交行为和对新奇事物的探索能力。在 14 周时,WT 小鼠表现出社交行为异常,而 Tg1 小鼠与 WT 组相比社交功能缺陷更严重。对于 WT 小鼠社交行为异常的表现,推测可能是由于 Tg1 动物社交行为异常出现之后对同笼饲养的 WT 小鼠的社交行为也产生了影响。有研究报道 Neuroligin-3 KO 自闭小鼠可以改变同窝饲养的阴性小鼠的社交行为,导致其出现社交功能障碍[17]。本研究发现听觉脑干功能异常早于社交行为异常,与此前另一项关于 Tg1 小鼠视觉发育异常的研究相符[18],共同提示在 Tg1 小鼠尚未出现社交障碍的幼年阶段可能已经出现感觉输入异常。

作为临床上最常用的听力检测手段之一,听觉脑干诱发电位可以提供丰富的听力检测指标。通过对 click 及不同频率纯音刺激的 ABR 阈值分析,发现 Tg1 小鼠在 4 周和 12 周对 24 kHz 纯音刺激表现出更高的敏感性,20 周时对 8 kHz 纯音刺激也表现出更低的阈值,而在其他几个发育时期则没有差异。虽然这种异常没有在发育过程中延续,也没有对听觉敏感性产生显著影响,但这种无规律的差异性有可能是自闭症听觉异常的体现之一,与自闭症人群复杂的感觉异常有关。除此之外,在本项研究中也发现 Tg1 小鼠相较于 WT 小鼠,其听觉脑干反应Ⅰ、Ⅲ、Ⅴ波的绝对潜伏期及波间期无显著性差异。这与 Fmr1 KO 自闭模型小鼠中得到的结果一致[11],而与 Adnp 基因缺陷自闭模型小鼠[19]中的发现不同。这提示在听觉脑干的神经信号传导中,特定基因蛋白表达异常可能会对神经信号传导产生差异性影响。

除此之外,本研究重点评估了 ABR 的Ⅰ、Ⅲ、Ⅴ波幅值以确定 Tg1 动物的听觉脑干反应水平是否受到影响。有研究报道,在耳蜗突触病、听神经纤维丧失或噪声引起的隐性听力损失等外周缺陷的情况下,Ⅰ波幅值会出现降低[20]。但本研究观察到Ⅰ波幅值在 Tg1 小鼠和 WT 组之间没有差异,因此可以认为 Tg1 小鼠的外周听觉系统是完好的。有研究报道,Ⅲ波幅值在 Fmr1 KO 小鼠中持续减小[11],这与本研究的发现不一致,其原因可能与不同基因失调所导致的具体改变有关。另外,波幅的变化可能源于包括神经元数量、个体活动水平以及神经元群体同步化水平等在内的多种因素。因此Ⅲ波所代表的上橄榄复合体神经活动增强,具体是哪些因素在其改变中发挥作用,还有待进一步从细胞和分子水平证明。此外,更值得关注的是在 Tg1 小鼠中,作为听觉高级中枢输入的Ⅴ波幅值在 4~8 周显著降低,但 12 周以后差异消失。我们推测Ⅲ波在发育后期(12 周以后)反应增强,可能导致下丘的输入增强,进而使得Ⅴ波幅值在 12 周以后恢复。另外,Ⅴ波在发育早期的活动减弱可导致听觉上行通路中的后级核团输入不足,进而引发听皮层在发育早期出现由于输入不足并导致以兴奋抑制失衡为代价的过度代偿[21]。

本研究系统研究 ASD 模型 MeCP2-Tg1 小鼠发育过程中的听觉脑干诱发电位。通过对听觉敏感性、神经传导速度和反应水平的测量,对 Tg1 小鼠中存在的听觉脑干功能障碍进行了评估。发现 Tg1 小鼠在某些发育时段对特定频率纯音刺激具有更高的敏感性,脑干不同水平对听觉诱发的神经反应水平有异常的降低或升高,并且其听觉异常出现早于其自闭样社交行为的发生。由于婴儿早期的交流行为(尤其是语言交流)有限,所以直到出生 14 个月或更长时间后自闭症才能得到可靠的临床诊断[22]。本研究结果提示,有可能在个体尚未出现 ASD 核心症状之前,通过婴儿期的

早期听觉筛查来发现其罹患 ASD 的风险。

参考文献:

[1] LEEKAM S R, NIETO C, LIBBY S J, *et al*. Describing the sensory abnormalities of children and adults with autism[J]. J Autism Dev Disord, 2007, 37(5): 894-910. DOI: 10.1007/s10803-006-0218-7.

[2] SINCLAIR D, ORANJE B, RAZAK K A, *et al*. Sensory processing in autism spectrum disorders and fragile X syndrome-from the clinic to animal models[J]. Neurosci Biobehav Rev, 2017, 76(pt b): 235-253. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.05.029.

[3] ROBERTSON C E, BARON-COHEN S. Sensory perception in autism[J]. Nat Rev Neurosci, 2017, 18(11): 671-684. DOI: 10.1038/nrn.2017.112.

[4] YU L D, WANG S P. Aberrant auditory system and its developmental implications for autism[J]. Sci China Life Sci, 2021, 64(6): 861-878. DOI: 10.1007/s11427-020-1863-6.

[5] ROTSCHAFER S E. Auditory discrimination in autism spectrum disorder[J]. Front Neurosci, 2021, 15: 651209. DOI: 10.3389/fnins.2021.651209.

[6] CHEUNG P P P, LAU B W M. Neurobiology of sensory processing in autism spectrum disorder[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2020, 173: 161-181. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2020.04.020.

[7] MATSUZAKI J, KU M, DIPIERO M, *et al*. Delayed auditory evoked responses in autism spectrum disorder across the life span[J]. Dev Neurosci, 2019, 41(3/4): 223-233. DOI: 10.1159/000504960.

[8] MIRON O, ARI-EVEN ROTH D, GABIS L V, *et al*. Prolonged auditory brainstem responses in infants with autism[J]. Autism Res, 2016, 9(6): 689-695. DOI: 10.1002/aur.1561.

[9] TRUONG D T, RENDALL A R, CASTELLUCCIO B C, *et al*. Auditory processing and morphological anomalies in medial geniculate nucleus of Cntnap2 mutant mice[J]. Behav Neurosci, 2015, 129(6): 731-743. DOI: 10.1037/bne0000096.

[10] LIAO W, GANDAL M J, EHRLICHMAN R S, *et al*. MeCP2+/-mouse model of RTT reproduces auditory phenotypes associated with Rett syndrome and replicate select EEG endophenotypes of autism spectrum disorder[J]. Neuro-biol Dis, 2012, 46(1): 88-92. DOI: 10.1016/j.nbd.2011.12.048.

[11] ROTSCHAFER S E, MARSHAK S, CRAMER K S. Deletion of Fmr1 alters function and synaptic inputs in the auditory brainstem[J]. PLoS One, 2015, 10(2): e0117266. DOI: 10.1371/journal.pone.0117266.

[12] GUY J, CHEVAL H, SELFRIDGE J, *et al*. The role of $MeCP_2$ in the brain[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2011, 27: 631-652. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154121.

[13] SANDWEISS A J, BRANDT V L, ZOGHBI H Y. Advances in understanding of Rett syndrome and $MECP_2$ duplication syndrome: prospects for future therapies[J]. Lancet Neurol, 2020, 19(8): 689-698. DOI: 10.1016/s1474-4422(20)30217-9.

[14] CHAO H T, ZOGHBI H Y, ROSENMUND C. $MeCP_2$ controls excitatory synaptic strength by regulating glutamatergic synapse number[J]. Neuron, 2007, 56(1): 58-65. DOI: 10.1016/j.neuron.2007.08.018.

[15] SUN L, CHEN R G, LI L, *et al*. Visualization and correction of social abnormalities-associated neural ensembles in adult $MECP_2$ duplication mice[J]. Sci Bull, 2020, 65(14): 1192-1202. DOI: 10.1016/j.scib.2020.03.026.

[16] TALGE N M, TUDOR B M, KILENY P R. Click-evoked auditory brainstem responses and autism spectrum disorder: a meta-analytic review[J]. Autism Res, 2018, 11(6): 916-927. DOI: 10.1002/aur.1946.

[17] KALBASSI S, BACHMANN S O, CROSS E, *et al*. Male and female mice lacking neuroligin-3 modify the behavior of their wild-type littermates[J]. eNeuro, 2017, 4(4): ENEURO.0145-ENEURO.0117.2017. DOI: 10.1523/ENEURO.0145-17.2017.

[18] ZHANG D H, YU B, LIU J, *et al*. Altered visual cortical processing in a mouse model of $MECP_2$ duplication syndrome[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6468. DOI: 10.1038/s41598-017-06916-3.

[19] HACOHEN-KLEIMAN G, YIZHAR-BARNEA O, TOULOUMI O, *et al*. Atypical auditory brainstem response and protein expression aberrations related to ASD and hearing loss in the adnp haploinsufficient mouse brain[J]. Neurochem Res, 2019, 44(6): 1494-1507. DOI: 10.1007/s11064-019-02723-6.

[20] SHI L J, CHANG Y, LI X W, *et al*. Cochlear synaptopathy and noise-induced hidden hearing loss[J]. Neural Plast, 2016, 2016: 6143164. DOI: 10.1155/2016/6143164.

[21] 周畅. MECP2 自闭症小鼠听觉异常及其皮层机制[D]. 重庆: 陆军军医大学, 2019.
ZHOU C. Auditory abnormalities and cortical mechanisms in $MECP_2$ autistic mice[D]. Chongqing: Army Medical University, 2019.

[22] PIERCE K, GAZESTANI V H, BACON E, *et al*. Evaluation of the diagnostic stability of the early autism spectrum disorder phenotype in the general population starting at 12 months[J]. JAMA Pediatr, 2019, 173(6): 578-587. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2019.0624.

(**收稿**:2021-07-07;**修回**:2021-08-23)

(编辑 吴培红)