

探讨乙酰半胱氨酸改善大鼠杏仁核相关的自闭症及其机制

蓝莉萍*

赣州市第三人民医院女二区, 江西 赣州

收稿日期: 2025年10月21日; 录用日期: 2025年11月14日; 发布日期: 2025年11月25日

摘 要

目的: 探讨全身性给予乙酰半胱氨酸对于自闭症的治疗作用及其机制。方法: 怀孕母鼠在怀孕的12.5天时腹腔注射一剂500 mg/kg丙戊酸。在出生第21天, 给予子代公鼠进行行为测试, 包括社交行为测试(SI)、开放空间行为测试(OF)、高架十字迷宫测试(EPM)。测试结束后, 腹腔注射给予乙酰半胱氨酸150 mg/kg或是生理食盐水, 每天一次, 为期七天。七天后给予大鼠相同的行为测试。二十四小时后, 处死大鼠, 进行电生理纪录。结果: 慢性给予丙戊酸子代乙酰半胱氨酸之后, 恢复社交时间和次数以及达到缓解焦虑行为的效果。于杏仁核脑片中, 丙戊酸子代有较高的mEPSCs频率和较低的PPF比值, 给予NAC治疗后得以恢复。结论: 给予乙酰半胱氨酸治疗之后, 改善丙戊酸子代的社交障碍、过度焦虑和增强的突触前兴奋性神经传导。

关键词

杏仁核, 自闭症, 丙戊酸, 乙酰半胱氨酸

Exploring the Effect of N-Acetylcysteine on Amygdala Related Autism in Rats and Its Mechanism

Liping Lan*

Women's Ward 2, Ganzhou Third People's Hospital, Ganzhou Jiangxi

Received: October 21, 2025; accepted: November 14, 2025; published: November 25, 2025

*通讯作者。

文章引用: 蓝莉萍. 探讨乙酰半胱氨酸改善大鼠杏仁核相关的自闭症及其机制[J]. 临床医学进展, 2025, 15(11): 2376-2387. DOI: 10.12677/acm.2025.15113360

Abstract

Objective: To explore the therapeutic effect and mechanism of systemic administration of N-acetylcysteine on autism. **Methods:** Pregnant rats were intraperitoneally injected with 500 mg/kg valproic acid at 12.5 days of pregnancy. On the 21st day of birth, the offspring male rats were given behavioral tests, including the social behavior test (SI), open field behavior test (OF), and elevated plus maze test (EPM). After the test, N-acetylcysteine 150 mg/kg or physiological salt water was injected intraperitoneally once a day for seven days. The rats were given the same behavioral test seven days later. Twenty four hours later, rats were killed and electrophysiological records were made. **Results:** after chronic administration of levulinic acid and N-acetylcysteine, the time and frequency of social recovery and the effect of relieving anxiety behavior were achieved. In amygdala brain slices, valproic acid progeny showed a high frequency of mEPSCs and a low PPF ratio, which recovered after treatment with NAC. **Conclusions:** after the treatment with acetylcysteine, the social disorder, excessive anxiety and enhanced presynaptic excitatory nerve conduction of valproate offspring can be improved.

Keywords

Amygdala, Autism, Valproate, N-Acetylcysteine

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

近年来, 自闭症有逐年增加的趋势, 目前用来治疗自闭症的药物, 都只能控制焦虑、攻击性或重复行为等症状, 并没有针对自闭症的治疗性药物[1]。利用“光遗传学”技术增加兴奋性/抑制性比值时, 老鼠会产生社交障碍, 而恢复平衡之后则恢复社交活动[2]。过去的研究也发现丙戊酸(Valproate, VPA)诱导的自闭症大鼠产生类自闭的行为与破坏杏仁核脑区兴奋性/抑制性平衡现象有关[3]。由此可知, 兴奋性/抑制性平衡在自闭症中扮演很重要的角色。NAC (N-acetylcysteine, 乙酰半胱氨酸)是一种已经在临床上使用的药物, 它可以透过活化 mGluR2/3 抑制谷氨酸释放, 降低兴奋性/抑制性比值[4]。因此本研究探讨利用 NAC 改变兴奋性/抑制性比值是否改善自闭症的状况, 并进一步厘清丙戊酸诱导大鼠产生类自闭的分子机制。

2. 材料

2.1. 实验动物

动物(Sprague-Dawley 大白鼠)居于维持 24℃ 恒温环境的鼠笼, 自由获得食物与水, 居住环境维持 12:12 的明暗周期。将公鼠与母鼠放置于交配笼中使其自由活动。

2.2. 药品来源

Sodium valproate (生产批号: V5012; 规格: 100 mg), N-acetyl-L-cysteine (生产批号: A9165; 规格: 25 g)购自于 Sigma (Sigma, U.S.A.)公司。LY341495 (生产批号: 120/97; 规格: 10 mg), Bicuculline methobromide (生产批号: B7561; 规格: 25 mg), Tetrodotoxin citrate (生产批号: T8024; 规格: 1 mg)购自于

Tocris (Tocris, U.K.)公司。

2.3. 实验方法

2.3.1. 自闭症大鼠行为模式建立

将丙戊酸授予怀孕第 12.5 天的怀孕母鼠,其所产下之子代会出现类似自闭症之行为(社交行为障碍及焦虑)。本实验中也利用此动物行为模式,观察大鼠是否具有自闭症的行为,以确立自闭症的大鼠行为模式的建立。当母鼠生殖道口出现阴道栓塞为怀孕的第 0.5 天,在怀孕第 12.5 天时,丙戊酸的怀孕母鼠以腹腔注射授予 500 mg/kg 的丙戊酸(生产批号: V5012; 规格: 100 mg),控制组的怀孕母鼠则以腹腔注射授予相当体积的 0.9%氯化钠溶液。每只怀孕母鼠分别放置于单独的鼠笼中,直到产下子代,在子代出生后第 21 天进行断乳,子代小鼠依照性别每 3~4 只为一笼,周龄 3 周时进行动物行为测试实验。

在本研究中,丙戊酸子代大鼠或控制组子代在出生后第 21 天断奶后腹腔注射给予 NAC (150 mg/kg; 生产批号: A9165; 规格: 25 g)或生理盐水(Saline),每天一次,为期 7 天,以及在行为测试前半小时各给予一剂 NAC,于第 8 天进行行为测试实验。因此,实验组别分别为控制组子代/生理盐水(Saline/saline),控制组子代/NAC (Saline/NAC),丙戊酸子代/生理盐水(VPA/saline),丙戊酸子代/NAC (VPA/NAC) 4 组大鼠。

2.3.2. 社交行为测试

将授予丙戊酸的怀孕母鼠所产下的子代(丙戊酸组)和授予生理食盐水产下之子代(控制组)同时放置在一个黑色亚克力箱中(50 cm × 50 cm × 40 cm)中,使其自由活动,利用摄影机拍摄记录 20 分钟影像。分别记录丙戊酸及控制组大鼠进行特定社交行为(包括:嗅闻对方的身体或生殖器、帮对方理毛、攀爬在对方身上或是跟在其后方等等)所花费的时间与次数。

2.3.3. 开放空间行为测试

由于临床上自闭症常伴随较焦虑的情绪反应,因此利用老鼠喜欢角落阴暗处以及对新环境好奇而探索的两种相反天性,进行开放式空间测试,当老鼠出现较焦虑的情绪反应,比较不会进入到中央空旷区域进行探索,因此观察老鼠在开放空间中自由活动 15 分钟的移动总距离和进入中央区域的时间百分比。将待测试的老鼠由角落放入一个开放式空间(50 cm × 50 cm × 40 cm)中,使其自由活动 15 分钟。记录老鼠进入中央区域的时间百分比与在开放式空间中所移动的总距离。中央区域约占整个面积的 25%。

2.3.4. 高架十字迷宫测试

同时利用老鼠怕高以及对于新环境好奇而进行探索的两种相反天性,进行高架十字迷宫评估焦虑的情绪反应,当老鼠出现较焦虑的情绪,愈不会进入开放端进行探索。将待测的老鼠放置在十字迷宫的中央区域(5 cm × 5 cm)面向开放端,使其自由行走 5 分钟。高架十字迷宫是四边分别由相对的开放端(50 cm × 5 cm × 40 cm)及封闭端(50 cm × 5 cm × 40 cm)所构成,观察老鼠进入开放端的时间的百分比,与总移动的距离。

2.4. 脑切片之制作

将大鼠在行为测试后的 24 小时内处死制作脑片。取出其大脑并立刻浸润于注入 95% O₂/5% CO₂ 混合气体的低温人工脑脊髓液(ACSF (mM): NaCl (117), KCl (4.7), CaCl₂ (2.5), MgCl₂ (1.2), NaH₂PO₄ (1.2), NaHCO₃ (25), Glucose (11))中,用解剖刀各在后端上脑静脉的第一分支及前端上脑静脉的最后分支横切一刀,将切好的半脑固定于切片机的平台上。将取出的大脑切成厚度约 300 μm 的杏仁核区域切片,最后将这些切片置于装有室温 ACSF 溶液的烧杯中,并不断注入 95% O₂/5% CO₂ 的混合气体。

2.5. 全细胞膜片箝制电生理纪录法

将 300 μm 的脑切片沿中线切为左右对称之脑片，放置于装有 ACSF 溶液的烧杯中，并不断注入 95% $\text{O}_2/5\% \text{CO}_2$ 的混合气体，且利用循环式加热器将装有脑片的 ACSF 溶液维持于 $32^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 20 分钟，进行电生理纪录前放置于室温中稳定至少一小时。在室温下将一片脑切片放入纪录槽中以尼龙网固定并浸润于 ACSF 中，以每分钟 2~3 ml 的流速进行灌流。记录的玻璃电极外径为 1.5 mm，内径为 0.75 mm，以两段式垂直拉针器制成微细管后，再充填内液(K^+ -based internal solution (mM): K-gluconate (128), NaCl (20), MgCl_2 (1), EGTA (1), CaCl_2 (0.3), HEPES (10), Na-ATP (2), Na-GTP (0.3), pH 7.3, 290~300 Osm)，使其电阻约在 3~5 $\text{M}\Omega$ ，将神经细胞膜吸破进行全细胞膜片箝制纪录。

记录所得的电流讯号由 Axopatch 700B 膜片钳放大器加以放大，透过 1440 A 数模/模数转换器的介面与电脑相连，进行数位化分析。使用 AxoGraph X 软件分析 mEPSC 讯号的强度及频率。Bipolar 刺激电极放置于听觉视丘投射至杏仁核 LA 的神经传导纤维，进而引发诱发电位(eEPSCs)，记录电极则置于 LA 区域中的锥状细胞，在电压钳中将细胞维持于 -70 mV 刺激杏仁核区域神经元以产生 evoked AMPAR-mediated EPSC。

2.6. 统计分析

所有实验结果皆以平均值 $\pm$ 平均误差(mean $\pm$ S.E.M.)表示，而实验次数以 n 值表示。Saline 与 VPA 的动物行为以 t 检验计算平均值之间的差异。电生理纪录的 PPF 以 repeated measurement two-way ANOVA 与 Bonferroni post-hoc 计算平均值之间的差异。在投予 NAC 后 4 组(saline/saline, saline/NAC, VPA/saline, VPA/NAC)的比较是以双因素方差分析与 Bonferroni post-hoc 计算平均值之间的差异；当 p 值小于 0.05 时，则视为具有统计学上显著差异。

3. 实验结果

3.1. 3 周大的丙戊酸子代具有类似自闭症行为

由于自闭症在人类三岁前即可确立诊断。因此想观察相当于人类幼年期的三周大的子代是否已经出现类似自闭症的行为，可以利用社交行为测试、开放式空间测试、高架十字迷宫测试观察三周大的子代是否表现自闭症的行为。

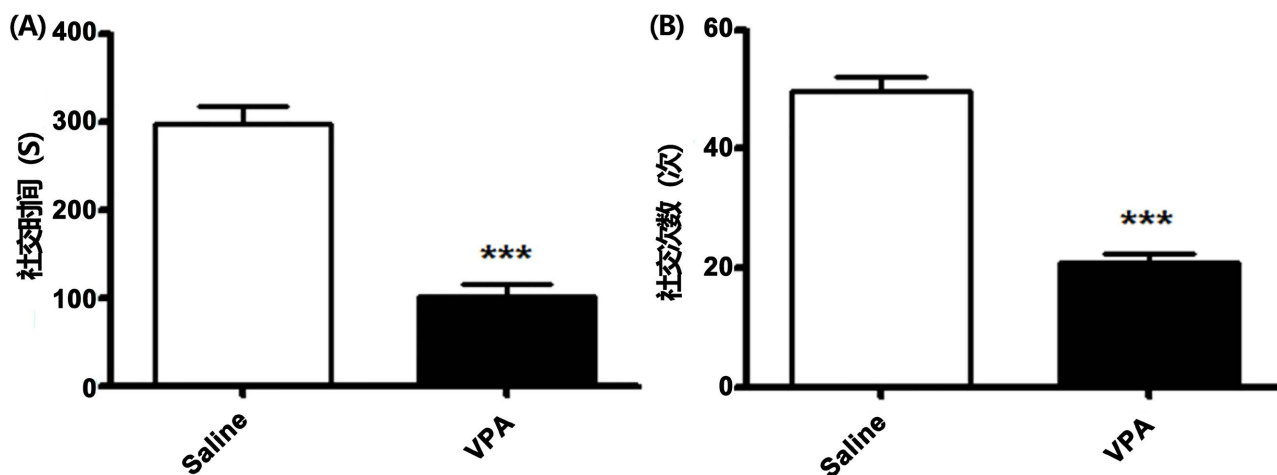


Figure 1. The social behavior test results of VPA offspring (***) $p < 0.001$ (saline group; VPA, Valproic acid group))

图 1. VPA 子代的社交行为测试结果(***) $p < 0.001$ (saline, 生理盐水组; VPA, 丙戊酸组))

3.1.1. 丙戊酸子代具有社交行为障碍

由于自闭症的最重要的表现为社交行为障碍, 因此利用社交行为测试来观察老鼠进行社交行为的时间与次数。丙戊酸的子代进行社交行为所花费的时间(100.5 ± 14.15 , $N = 55$)较控制组(296.3 ± 20.16 , $N = 26$)缩短($p < 0.0001$) (图 1(A))。进行社交行为的次数, 丙戊酸的子代(20.84 ± 1.470 , $N = 55$)也较控制组(49.73 ± 2.370 , $N = 26$)减少($p < 0.0001$) (图 1(B))。结果显示, 丙戊酸的子代在面对另一只陌生的外来鼠时, 子代进行社交行为的时间与次数都较少, 显示丙戊酸子代表现出社交行为障碍。

3.1.2. 丙戊酸子代具有较焦虑情绪

观察老鼠在开放空间中自由活动 15 分钟的移动总距离和进入中央区域的时间百分比(图 2(A))。在移动总距离, 丙戊酸子代(2954 ± 133.9 , $N = 55$)和控制组小鼠(3406 ± 209.2 , $N = 26$)并无显著差异($p > 0.05$) (图 2(C)), 进入中央区域的时间百分比在丙戊酸组子代(0.8810 ± 0.1207 , $N = 55$)较控制组(2.070 ± 0.3181 , $N = 26$)减少($p < 0.001$) (图 2(B))。结果显示, 丙戊酸或控制组子代在运动功能不具差异, 但是丙戊酸的子代进入中央区的时间较少, 显示授予丙戊酸的子代具有焦虑的情绪反应。

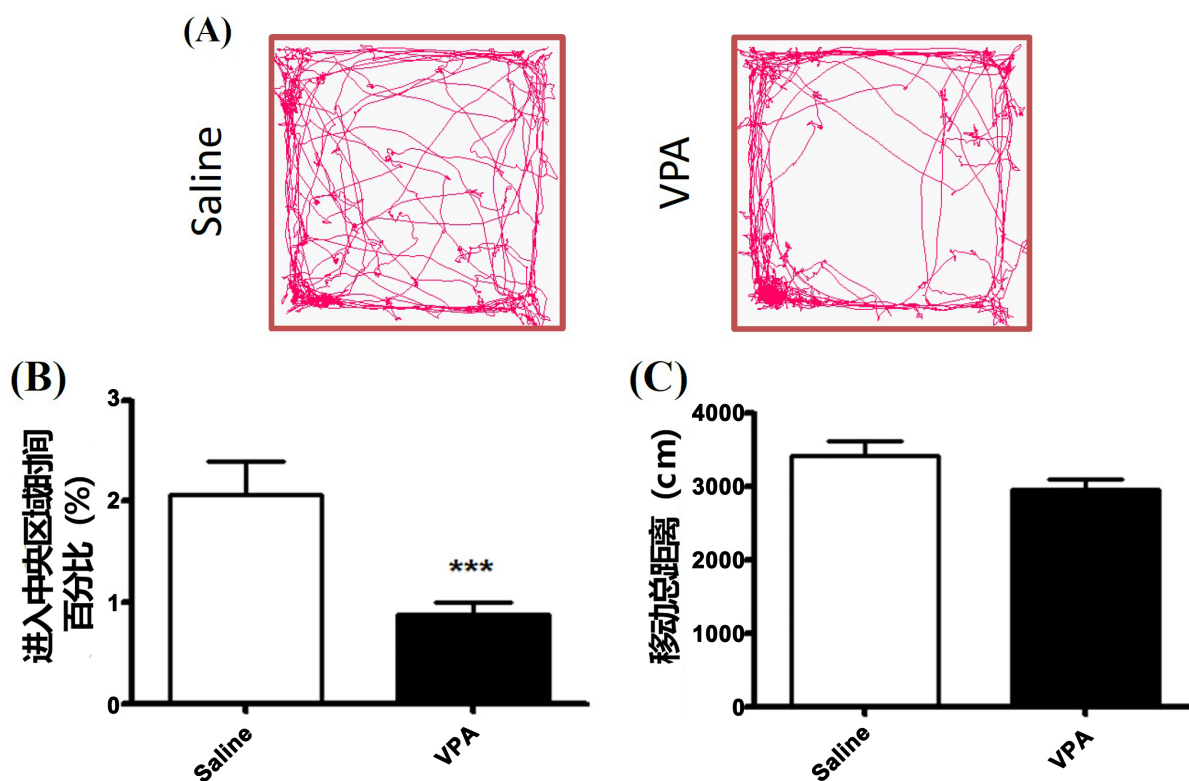


Figure 2. Open space testing results of VPA offspring (** $p < 0.001$ (saline, saline group; VPA, Valproic acid group))

图 2. VPA 子代的开放式空间测试结果(** $p < 0.001$ (saline, 生理盐水组; VPA, 丙戊酸组))

3.1.3. 在高架十字迷宫测试中, 丙戊酸的公鼠子代具有焦虑的情绪

观察老鼠在高架十字迷宫中自由进入封闭端及开放端的情形(图 3(A))。在移动的总距离上, 控制组(994.1 ± 55.84 , $N = 26$)和丙戊酸子代(969.9 ± 38.73 , $N = 55$)不具有显著差异($p > 0.05$) (图 3(C))。在进入开放端的时间百分比, 丙戊酸子代(6.913 ± 1.324 , $N = 55$)较控制组子代(23.22 ± 5.130 , $N = 26$)进入时间短($p < 0.001$) (图 3(B))。结果显示, 无论丙戊酸或是控制组老鼠在运动功能上是一致的, 而丙戊酸子代进入开放端进行探索的时间较短, 显示具有焦虑情绪。

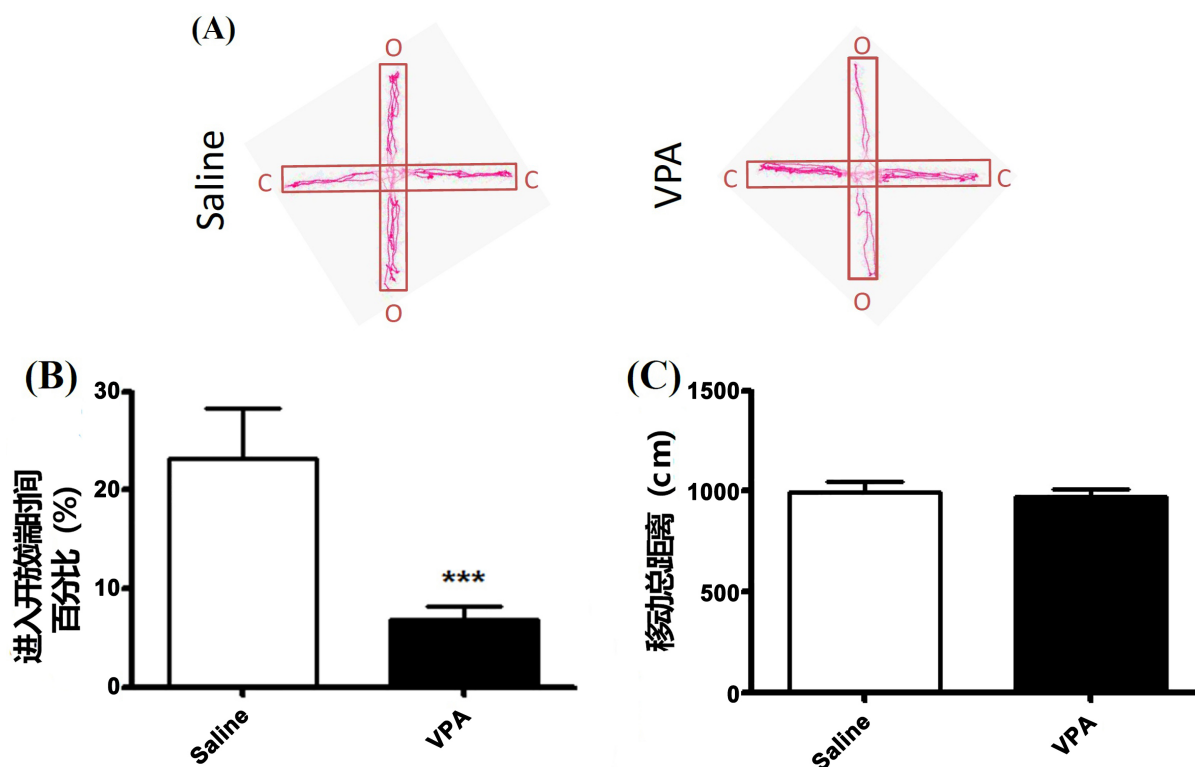


Figure 3. The elevated cross maze test results of VPA offspring (** $p < 0.001$ (saline, saline group; VPA, Valproic acid group))
图 3. VPA 子代的高架十字迷宫测试结果(** $p < 0.001$ (saline, 生理盐水组; VPA, 丙戊酸组))

3.2. NAC 可改善丙戊酸子代社交障碍与杏仁核脑区相关行为

3.2.1. NAC 可以改善丙戊酸子代的社交行为

结果发现在社交次数方面, 丙戊酸子代/NAC 组与丙戊酸子代/生理盐水组具有显著的差异($p < 0.001$) (图 4(B))。而在社交时间方面也获得相似的结果($p < 0.001$) (图 4(A))。而控制组子代/生理盐水组与丙戊酸子代/NAC 组无明显统计学差异, 显示给予 NAC 之后彻底改善社交障碍。NAC 治疗后观察到在社交时间和次数方面 Saline/NAC 和 Saline/saline 组之间没有显著差异。这显示给予 NAC 之后彻底改善了社交障碍, 但不影响控制组子代的社交行为。

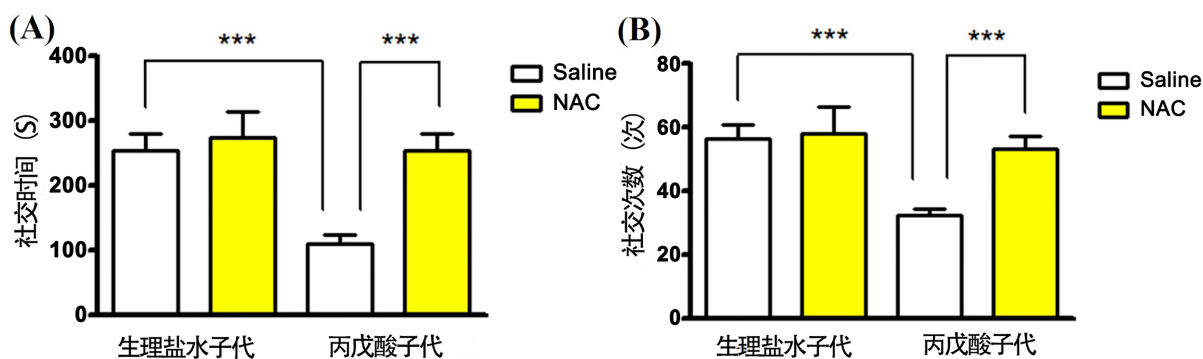


Figure 4. The social behavior test results of VPA offspring after NAC treatment (** $p < 0.001$ (saline group; VPA, Valproic acid group; NAC, Acetylcysteine))

图 4. NAC 治疗后 VPA 子代的社交行为测试结果(** $p < 0.001$ (saline, 生理盐水组; VPA, 丙戊酸组; NAC, 乙酰半胱氨酸))

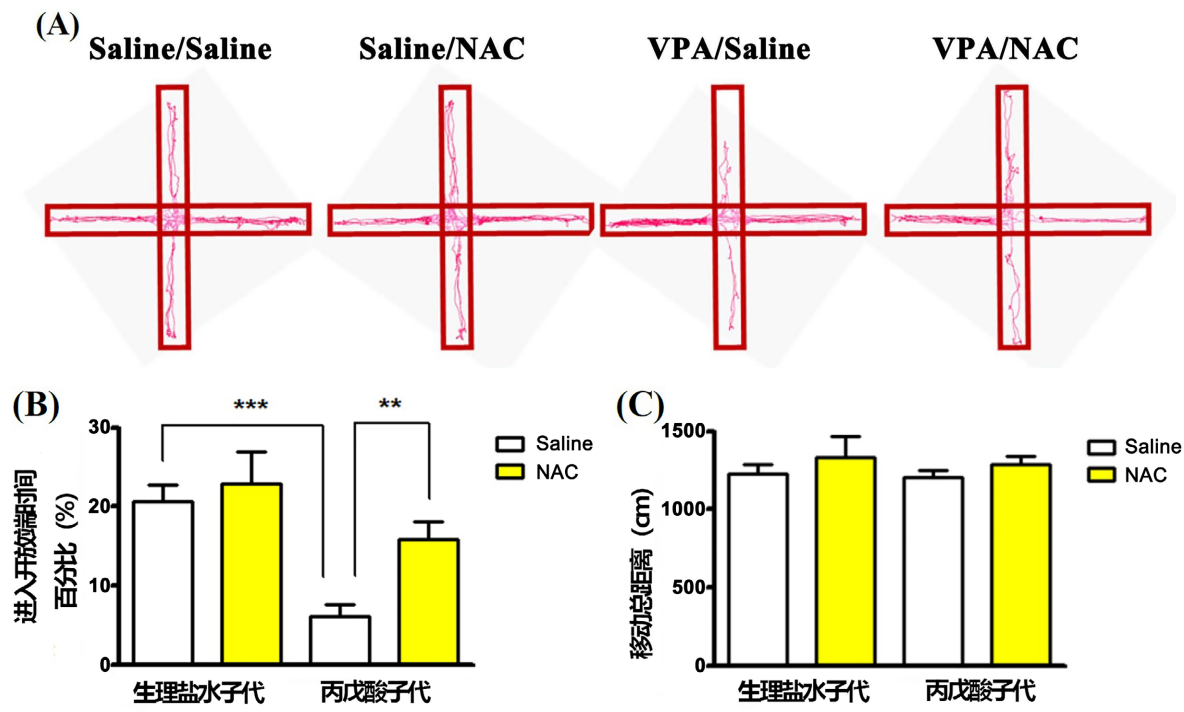


Figure 5. The elevated cross maze test results of VPA offspring after NAC treatment ($***p < 0.001$ (saline group; VPA, Valproic acid group; NAC, Acetylcysteine))
图 5. NAC 治疗后 VPA 子代的高架十字迷宫测试结果($***p < 0.001$ (saline, 生理盐水组; VPA, 丙戊酸组; NAC, 乙酰半胱氨酸))

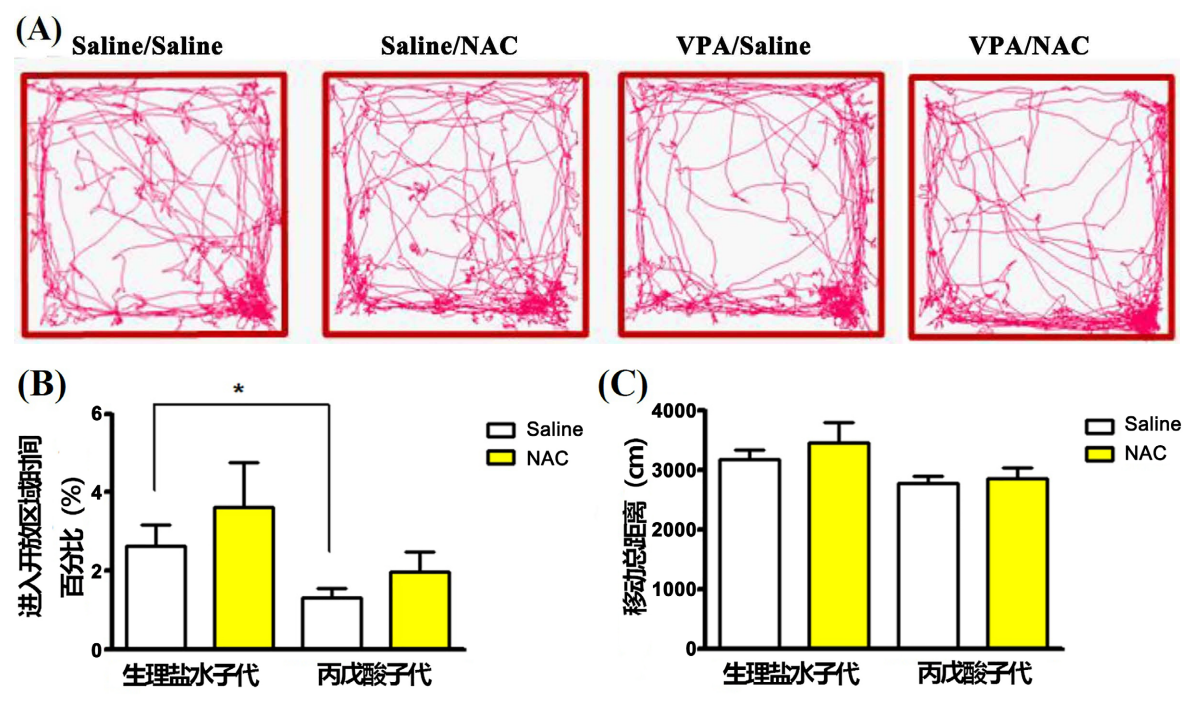


Figure 6. The open space behavior test results of VPA offspring after NAC treatment ($***p < 0.001$ (saline group; VPA, Valproic acid group; NAC, Acetylcysteine))
图 6. NAC 治疗后 VPA 子代的开放空间行为测试结果($***p < 0.001$ (saline, 生理盐水组; VPA, 丙戊酸组; NAC, 乙酰半胱氨酸))

3.2.2. NAC 可改善丙戊酸子代焦虑的情绪

在高架十字迷宫测试中(图 5(A)), 结果显示在行走距离方面四组之间无显著差异($p > 0.05$) (图 5(C))。而在进入开放端的时间百分比, 丙戊酸子代/NAC 组与丙戊酸子代/生理盐水组具有显著的差异($p < 0.001$) (图 5(B))。控制组子代/生理盐水组与控制组子代/NAC 组无明显统计学差异。但是丙戊酸子代/生理盐水组与控制组子代/生理盐水组具有统计学差异($P < 0.05$)。显示给予 NAC 后可以减少丙戊酸子代焦虑行为。但不能恢复到完全正常水平。

在开放空间行为测试中, 虽然 NAC 增加丙戊酸子代在中央区域探索的时间, 但差异没有达到统计学意义(图 6)。

3.3. NAC 调控丙戊酸子代的杏仁核的突触活性

由于杏仁核调控情绪与恐惧记忆, 且参与社交行为进行, 由脑部影像学中也发现杏仁核在自闭症病人中有高度的活化, 另外过去实验室的结果也发现, 丙戊酸子代的杏仁核外侧具有过度活化的突触活性[5]。因此在此想利用电生理全细胞纪录, 观察丙戊酸子代在给予 NAC 治疗后其杏仁核的神经回路与突触特性是否发生了变异?

3.3.1. NAC 可改善丙戊酸子代杏仁核侧核(Lateral Amygdala)中的兴奋性神经传导

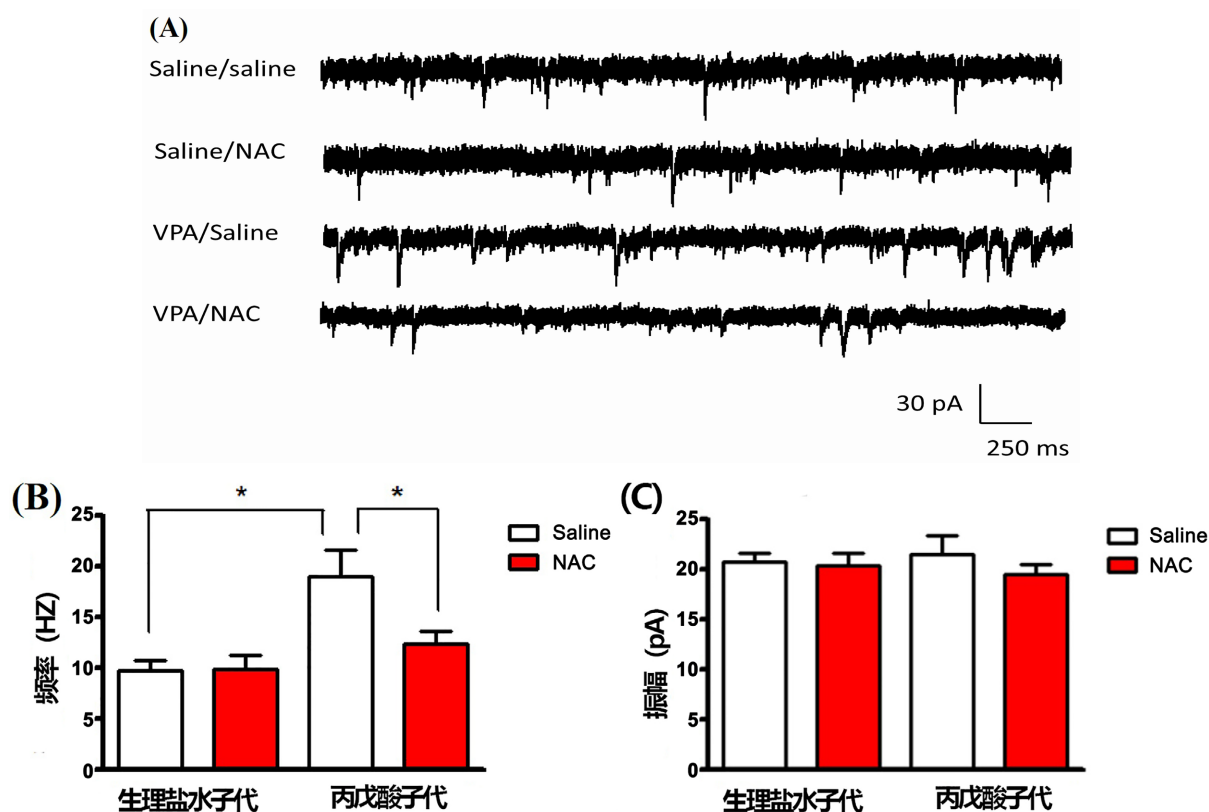


Figure 7. Excitatory nerve conduction frequency and amplitude in the amygdala lateral nucleus of offspring of valproic acid treated with NAC ($*p < 0.05$) Saline, physiological saline group; VPA, Valproic acid group; NAC, Acetylcysteine)

图 7. NAC 治疗后丙戊酸子代杏仁核侧核中的兴奋性神经传导频率与振幅($*p < 0.05$ (saline, 生理盐水组; VPA, 丙戊酸组; NAC, 乙酰半胱氨酸))

我们先前的研究已发现, 丙戊酸子代的微兴奋性突触后电流(mEPSCs)的频率较高。在记录 mEPSCs

时，会在人工脑脊髓溶液加入荷包牡丹碱($10\text{ }\mu\text{M}$ ；生产批号：B7561；规格：25 mg)，还会加入钠离子的阻断剂 TTX ($0.5\text{ }\mu\text{M}$ ；生产批号：T8024；规格：1 mg)，抑制自发性动作电位的产生，单纯观察神经元末端囊泡释放神经传导物质的作用(图 7(A))。结果得知给予 NAC 的丙戊酸子代 mEPSC 频率(11.56 ± 0.9930 , $N = 6$)较授予 saline 的丙戊酸子代(18.99 ± 2.544 , $N = 8$)低($p < 0.05$)，与授予 saline 的控制组子代(9.715 ± 1.00 , $N = 6$)不具有显著性差异。另外，授予 saline 的丙戊酸子代 mEPSC 频率(18.99 ± 2.544 , $N = 8$)较授予 saline 的控制组子代(9.715 ± 1.008 , $N = 6$)高($p < 0.05$) (图 7(B))，显示丙戊酸子代有较高的神经兴奋性，但 4 组间 mEPSCs 振幅的差异并不显著(图 7(C))。以上结果表示，丙戊酸的子代杏仁核有过度兴奋性，但在给予 NAC 之后可以恢复回来。

3.3.2. NAC 可改善丙戊酸子代杏仁核侧核中的神经传导物质释放量

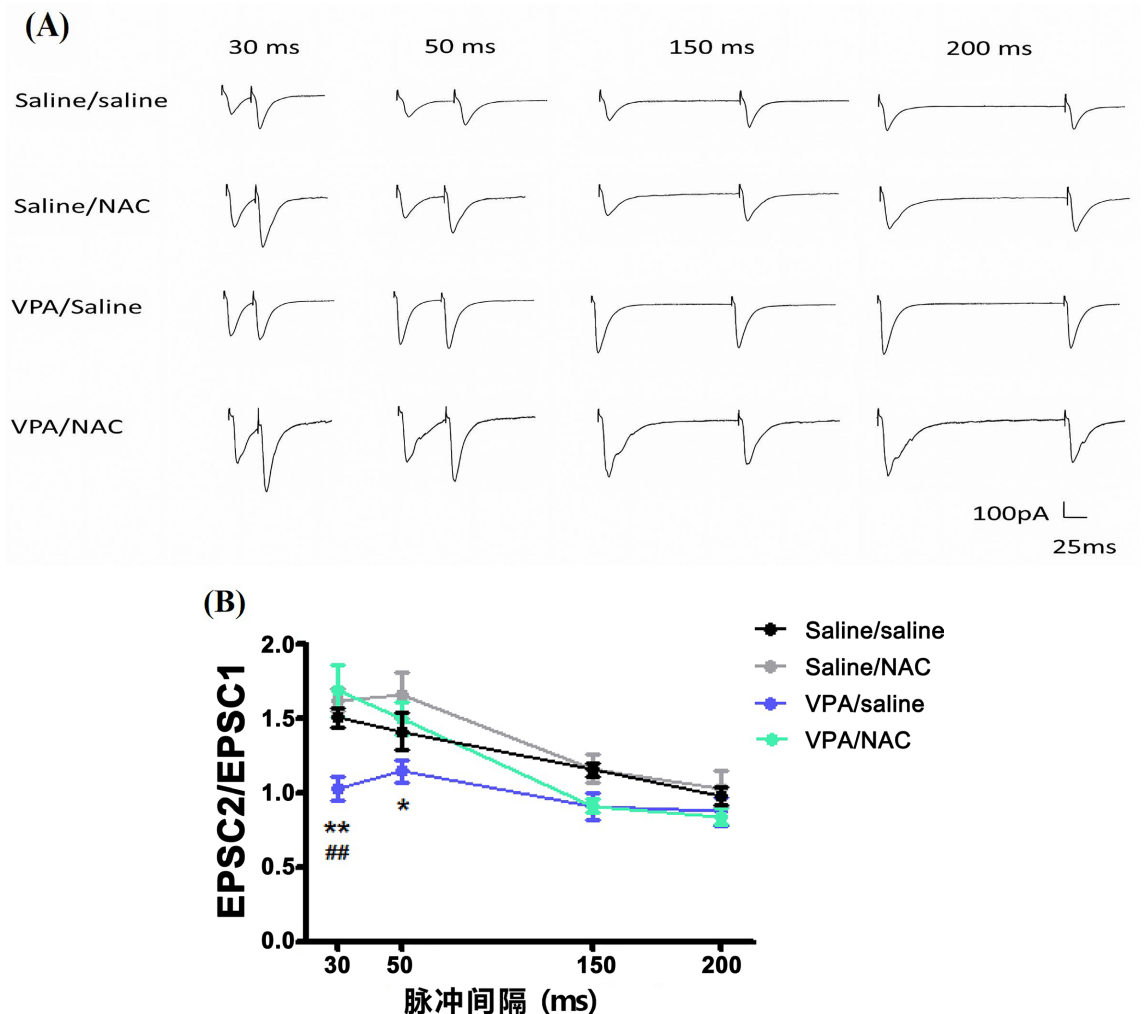


Figure 8. The release of neurotransmitters in the amygdala lateral nucleus of offspring of valproic acid after NAC treatment ($*p < 0.05$) Saline, physiological saline group; VPA, Valproic acid group; NAC, Acetylcysteine)
图 8. NAC 治疗后丙戊酸子代杏仁核侧核中的神经传导物质释放量($*p < 0.05$ (saline, 生理盐水组; VPA, 丙戊酸组; NAC, 乙酰半胱氨酸))

进一步证明丙戊酸的子代杏仁核的过度兴奋性是否与突触前或突触后神经传递改变有关？双脉冲易化(paired-pulse facilitation, PPF)可以评估短期的突触可塑性，藉以了解突触前的功能，由于 PPF 的改变与

神经传导物质的释放呈现负相关, 其比值为利用在不同时间间隔第二次刺激 EPSC 的振幅比上第一次刺激 EPSC 的振幅(EPSC2/EPSC1), 比值愈小代表突触前神经传导物质释放量增加。我们进一步分析了 4 组的 PPF, 发现授予 saline 的丙戊酸子代在(30 ms: 1.027 ± 0.08236 ; 50 ms: 1.144 ± 0.07743 , N = 8)其 PPF 的比值较授予 saline 的控制组子代(30 ms: 1.503 ± 0.06453 ; 50 ms: 1.407 ± 0.1251 , N = 6)明显较低(30 ms: $p < 0.01$), 给予 NAC 之后, 恢复了丙戊酸子代的 PPF 比值(30 ms: 1.684 ± 0.1769 ; 50 ms: 1.496 ± 0.1099 , N = 8) (VPA/saline VS VPA/NAC, 30 ms: $p < 0.01$, 50 ms: $p < 0.05$) (图 8)。此外, 在 Saline/NAC 和 Saline/saline 两组之间的 PPF 并无显著差异。由以上结果显示, 丙戊酸子代慢性授予 NAC 之后, mEPSC 的频率减少且 PPF 的比值增加, 显示杏仁核突触前的兴奋性神经传递物质释放异常得到改善。

4. 讨论

在本研究中, 利用丙戊酸投喂怀孕母鼠第 12.5 天, 建立自闭症的动物模式, 发现在三周大的子代表现出类似自闭症的行为, 社交行为障碍和焦虑的情绪。长期投与 NAC 做慢性治疗, 结果发现恢复了丙戊酸子代的社交时间以及社交次数, 并且缓解丙戊酸子代的焦虑症状。由于杏仁核的功能异常被认为与自闭症的生成有关, 因此利用电生理全细胞膜片箝制电生理技术纪录丙戊酸子代在给予 NAC 治疗之后是否改变杏仁核的神经特性。发现丙戊酸的子代在给予 NAC 之后, 杏仁核侧核中 mEPSC 的频率降低但不影响振幅, 证实了丙戊酸子代给予 NAC 之后降低了杏仁核的高度兴奋性。为了厘清 NAC 如何改变丙戊酸子代杏仁核过度兴奋的原因, 利用电刺激视丘到杏仁核的路径, 纪录双脉冲易化, 发现其 PPF 的比值恢复回来。在丙戊酸子代, 慢性给予 NAC 治疗后, 由 mEPSC 的频率降低与 PPF 的比值增加, 推测 NAC 改善丙戊酸子代杏仁核的过度兴奋应是由于降低突触前神经传递物质释放所致。根据本篇研究的结果, 发现 NAC 改善兴奋性/抑制性平衡, 并可作为未来进行开发自闭症药物治疗的药物。

近年来, 由于诊断技术的提升, 被诊断罹患自闭症的人数日渐增加, 但我们对自闭症这个疾病所知仍然有限。自闭症是由于脑部神经异常, 导致神经发育障碍的终身疾病。通常患者会出现社交障碍, 缺乏沟通能力以及重复性行为。由动物模型也发现, 若是在怀孕的期间, 神经管闭合时期给予丙戊酸, 子代会表现出类似于人类自闭症的解剖、病理、行为[5]。过去研究以及实验室的结果发现, 丙戊酸诱导的自闭症子代, 在行为上表现出社交障碍、重复性行为、焦虑、过度害怕等[6]。在我们的研究中, 不论是三周大或是给予 saline 处理过后的四周大的丙戊酸子代皆表现出明显的社交行为障碍、焦虑情绪。有趣的是, 在社交行为测试实验中, 观察到 NAC 可以改善丙戊酸子代的社交障碍; 而在高架十字迷宫行为测试实验中, 观察到 NAC 可以降低丙戊酸子代的焦虑, 但在开放空间行为测试, 观察到 NAC 并没有显著地降低子代焦虑的现象。过去的文献发现, 利用开放空间测试, 除了可以测得实验动物的焦虑行为外, 也可以测得实验动物到新环境时的探索力[7], 另外有研究指出, 丙戊酸诱导的自闭症子代, 探索力比较低[8], 在开放空间行为测试中, NAC 虽然改善了过度焦虑, 但有可能未能增加丙戊酸子代的探索力。而丙戊酸子代在我们的动物模型中是否探索力下降, 以及 NAC 有无改变丙戊酸子代的探索力, 则需要更多的实验结果去证明。

利用电生理纪录杏仁核侧核(LA)区域的神经发现丙戊酸子代的视丘 - 杏仁核神经回路 mEPSCs 频率增加以及 PPF 降低, 而给予 NAC 之后可以恢复。这些实验结果都指出, 自闭症与杏仁核的兴奋性神经传导有关, 而改变兴奋性/抑制性比值平衡, 可能是造成自闭症的原因[9]。而文献也指出, 兴奋性/抑制性比值平衡和社交障碍和讯息的处理息息相关[10]。已有文献指出, 利用 optogenetic 技术过度活化神经传递, 破坏兴奋性/抑制性比值平衡, 会导致社交障碍, 但增加抑制性的神经传递活化之后, 则可以恢复回来[11]。mEPSC 频率显示神经细胞的突触数目[12]。PPF 一般归因于突触前神经传导物质释放的改变[13], 当 PPF 减少时代表释放量增加。而我们观察到丙戊酸子代的 mEPSC 频率增加以及 PPF 降低和之前的文

献指出破坏兴奋性/抑制性比值平衡可能是造成自闭症的原因相符。

NAC 为临床用药,常用于扑热息痛使用过量中毒的解毒剂、化痰和肾脏保护剂等。目前,NAC 也积极用于精神疾病的临床试验,发现可以改善精神分裂症[14]以及双极性疾病[15]的症状。在本研究的结果发现,利用丙戊酸诱导的自闭症大鼠模式中,给予 NAC 治疗之后,增加社交活动时间以及次数和缓解过度的焦虑,此外,给予 NAC 慢性治疗之后,恢复了丙戊酸诱导的自闭症大鼠模式中增加的神经兴奋性/抑制性比值。综合以上的实验结果,显示了 NAC 应可作为用于临床上治疗自闭症的新药研究方向之一。

基金项目

本研究为赣州市指导性科技计划项目,项目编号:GZ2021ZSF226;本实验经赣州市第三人民医院动物实验伦理委员会审查并批准(伦理审批号:GZSDSY20240012)(动物批号:GNYKDX2024015)。

参考文献

- [1] 曾泳添,陈日玲,农雪艳,等. 数字疗法在自闭症筛查到干预的临床研究进展与挑战[J]. 中国全科医学, 2025, 28(14): 1702-170.
- [2] de la Torre-Ubieta, L., Won, H., Stein, J.L. and Geschwind, D.H. (2016) Advancing the Understanding of Autism Disease Mechanisms through Genetics. *Nature Medicine*, 22, 345-361. <https://doi.org/10.1038/nm.4071>
- [3] Wang, F., Gao, Y., Liu, Z., Cheng, Z., Liu, S., Zhang, Y., et al. (2025) Boosting 2-Arachidonoylglycerol, but Not N-Acylethanolamine, Ameliorates Autism Symptoms in VPA-Exposed Rats by Modulating Abnormal Neuroinflammation. *Neuropharmacology*, 276, Article 110501. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2025.110501>
- [4] Pangrazzi, L., Cerilli, E., Balasco, L., Dall'O', G.M., Chelini, G., Pastore, A., et al. (2024) N-Acetylcysteine Counteracts Immune Dysfunction and Autism-Related Behaviors in the Shank3b Mouse Model of Autism Spectrum Disorder. *Antioxidants*, 13, Article 1390. <https://doi.org/10.3390/antiox13111390>
- [5] Loomis, S., Silva, D.G., Savopoulos, R., Cilia, J., Li, J., Davis, M.D., et al. (2025) Behavioral and Transcriptomic Effects of a Novel Cannabinoid on a Rat Valproic Acid Model of Autism. *Neuropharmacology*, 273, Article 110450. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2025.110450>
- [6] Takyi, E., Nirmalkar, K., Adams, J. and Krajmalnik-Brown, R. (2025) Interventions Targeting the Gut Microbiota and Their Possible Effect on Gastrointestinal and Neurobehavioral Symptoms in Autism Spectrum Disorder. *Gut Microbes*, 17, Article 2499580. <https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2499580>
- [7] Ostrolenk, A., Boisvert, M. and Mottron, L. (2025) What Do Autistic Children Who Are Interested in Letters and Numbers Do with Them? A Qualitative Study. *International Journal of Qualitative Studies on Health and Well-Being*, 20, Article 2500851. <https://doi.org/10.1080/17482631.2025.2500851>
- [8] Shareef, A.A., Kheder, A.H., Albarzinji, N., Karim, K.J., Smail, S.W., Mahmood, A.A., et al. (2025) Oxidative Markers and SOD Variant: Predictors of Autism Severity and Susceptibility. *Future Science OA*, 11, Article 2483628. <https://doi.org/10.1080/20565623.2025.2483628>
- [9] 谢雅静, 时晓敏, 颜世敢, 等. 肠道菌群与精神类疾病相关性研究进展[J]. 中国药理学通报, 2022, 38(11): 1617-1622.
- [10] Simões de Oliveira, L., O'Leary, H.E., Nawaz, S., Loureiro, R., Davenport, E.C., Baxter, P., et al. (2024) Enhanced Hippocampal LTP but Normal NMDA Receptor and AMPA Receptor Function in a Rat Model of CDKL5 Deficiency Disorder. *Molecular Autism*, 15, Article No. 28. <https://doi.org/10.1186/s13229-024-00601-9>
- [11] Kurahashi, H., Kunisawa, K., Tanaka, K.F., Kubota, H., Hasegawa, M., Miyachi, M., et al. (2025) Autism Spectrum Disorder-Like Behaviors Induced by Hyper-Glutamatergic NMDA Receptor Signaling through Hypo-Serotonergic 5-HT1A Receptor Signaling in the Prefrontal Cortex in Mice Exposed to Prenatal Valproic Acid. *Neuropsychopharmacology*, 50, 739-750. <https://doi.org/10.1038/s41386-024-02004-z>
- [12] Xia, Q., Walker, A.K., Song, C., Wang, J., Singh, A., Mobley, J.A., et al. (2023) Effects of Heterozygous Deletion of Autism-Related Gene Cullin-3 in Mice. *PLOS ONE*, 18, e0283299. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283299>
- [13] Tumdam, R., Hussein, Y., Garin-Shkolnik, T. and Stern, S. (2024) NMDA Receptors in Neurodevelopmental Disorders: Pathophysiology and Disease Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 25, Article 12366. <https://doi.org/10.3390/ijms252212366>
- [14] Williams, P.G., Sears, L., Watson, W.H., Gunaratnam, B., Feygin, Y., Wright, S.P., et al. (2025) Glutathione, Vitamin C, and Cysteine Use in Autistic Children with Disruptive Behavior: A Double-Blind, Placebo-Controlled Crossover Pilot

-
- Study. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, **46**, e17-e24. <https://doi.org/10.1097/dbp.0000000000001334>
- [15] Shamabadi, A., Karimi, H., Arabzadeh Bahri, R., Motavaselian, M. and Akhondzadeh, S. (2024) Emerging Drugs for the Treatment of Irritability Associated with Autism Spectrum Disorder. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, **29**, 45-56. <https://doi.org/10.1080/14728214.2024.2313650>