

# 自噬在孤独症模型大鼠行为学及海马 PSD-95 蛋白表达变化中的作用

刘芬<sup>1,2</sup>, 周波<sup>3</sup>, 文敏<sup>4</sup>, 罗瑜平<sup>1,2</sup>, 陈运华<sup>4</sup>, 艾戎<sup>2</sup>, 董雪涛<sup>2</sup>

**摘要** 目的 观察孤独症大鼠自噬干预前后突触相关蛋白的表达变化,探讨自噬在孤独症大鼠突触发育中的作用。方法 采用母孕期化学干预法于 Wistar 鼠孕 12.5 d(E12.5) 给予腹腔注射丙戊酸钠(VPA),其子代为孤独症模型组,同样方法在孕鼠 E12.5 腹腔注射同等剂量生理盐水,其子代为正常组,通过自梳理实验、三箱实验验证模型是否成功。在出生后 35~42 d(P35~P42) 从孤独症模型中随机取 30 只分为三组:自噬增强组(Rap 组),腹腔注射雷帕霉素(5 mg/kg);自噬抑制组(3-MA 组),腹腔注射 3-methyladenine(5 mg/kg);模型组,腹腔注射同等剂量的溶剂。运用三箱实验及自梳理实验对比自噬干预前后大鼠的社会行为变化,Western blot 方法对比自噬干预前后孤独症大鼠 P42 自噬与突触相关蛋白的表达变化。结果 ① 成功建立孤独症模型,自梳理实验显示模型组理毛时间较正常组明显延长( $P < 0.01$ ),与模型组(治疗后)比较,Rap 组理毛时间减少( $P < 0.01$ ),3-MA 组理毛时间延长( $P < 0.01$ );三箱实验显示,与正常组比较,模型组缺乏社会交往能力及对新鲜事物偏好能力,Rap 组可改善该社会能力,而 3-MA 组则进一步加重;② 与正常组比较,模型组大鼠 P42 海马 LC3-II、Beclin 1 表达减少( $P < 0.05$ ),PSD-95 表达增加( $P < 0.05$ );与模型组(治疗后)比较,Rap 组大鼠 P42 海马 LC3-II、Beclin 1 表达增加( $P < 0.05$ ),PSD-95 表达减少( $P < 0.05$ ),而 3-MA 组则相反。结论 孤独症大鼠通增强自噬可调节突触发育,增强自噬可能是一个潜在的治疗方法。

**关键词** 孤独症;自噬;突触;雷帕霉素;3-MA

中图分类号 R 729

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)11-1746-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.11.019

孤独症,又称自闭症,是一种神经发育障碍性疾病,主要表现为行为重复刻板和社会沟通障碍,部分

患者伴有智力障碍,其发病率约 0.6%,男女发病比率约为 4:1,迄今为止,其发病机制尚不明确<sup>[1-2]</sup>。近年来,遗传学和基因组学研究鉴定的大量孤独症相关候选基因,如 NLGN3/4、NRXN1、TSC1/2、FMR1 等,其中大部分基因与突触发育有关<sup>[3-6]</sup>,突触已成为孤独症研究领域的焦点。

近年来,越来越多的证据表明,突触的发育与自噬密切相关,自噬在突触发育中的作用已经在果蝇和线虫模型中得到证实,但其在哺乳动物突触发育中的作用仍不清楚<sup>[7]</sup>。本实验通过在 Wistar 鼠孕 12.5 d 给予腹腔注射丙戊酸钠诱导孤独症动物模型,运用自梳理实验及三箱实验验证模型是否成功,并给予自噬增强剂雷帕霉素(rapamycin)和自噬抑制剂(3-methyladenine)干预孤独症大鼠,再次运用自梳理实验及三箱实验检测自噬干预前后孤独症大鼠行为变化,Western blot 方法对比自噬干预前后孤独症大鼠海马自噬相关蛋白(LC3-II、Beclin 1)与突触相关蛋白(PSD-95)的表达变化,探讨自噬的变化在孤独症大鼠突触发育中的可能机制。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 健康繁殖期 Wistar 雌鼠 20 只(体质量 250~260 g)和雄鼠 10 只(体质量 270~280 g),贵州医科大学实验动物中心提供(合格证号 SCXK 京[2014-0004])。丙戊酸钠(sodium valproate, VPA)(P4543)和 LC3-II 兔抗鼠多克隆抗体(L8918)购自美国 Sigma 公司;雷帕霉素(Rapamycin)(R-5000)购自上海睿铂赛生物科技有限公司;3-methyladenine(3-MA)(HY-49312)购自 MCE 公司;BCA 蛋白质定量试剂盒、RIPA 裂解液、Beclin 1 兔抗鼠多克隆抗体(bs-4353R)、 $\beta$ -actin 兔抗鼠多克隆抗体(bs-0061R)购自北京博奥森生物技术有限公司;PSD-95 兔抗鼠多克隆抗体(#3409)购自美国 CST 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 模型建立** 参考 Schneider et al<sup>[8]</sup> 建模方

2018-05-10 接收

基金项目:贵州省科技合作计划项目(编号:黔科合 LH 字[2015]7351);贵州省科技计划(编号:黔科合 SY[2010]3082)

作者单位:贵州医科大学<sup>1</sup> 临床医学院、<sup>3</sup> 生物学教研室、<sup>4</sup> 人体解剖学教研室,贵阳 550004

<sup>2</sup> 贵州医科大学附属医院儿科,贵阳 550004

作者简介:刘芬,女,硕士研究生;

董雪涛,女,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail:1115393686@qq.com

法 选取健康成年 Wistar 雌鼠 20 只和雄鼠 10 只 雌雄鼠按 2 : 1 比例于 19:00 合笼过夜 用苦味酸给实验动物做标记编号 次日早晨进行雌鼠阴道涂片 光镜观察 涂片上观察到精子的当天计为妊娠(embryonic day E) 第 1 天 (E1) 孕鼠分笼饲养。在 E12.5 d 时 实验组孕鼠给予 250 g/L 的 VPA (600 mg/kg) 腹腔注射 产下的子代鼠为孤独症模型组 对照组孕鼠腹腔注射同等剂量的生理盐水 产下的子代鼠为正常组。所有子代鼠出生当日计为生后第 1 天 (postnatal P1)。于 P35 在孤独症模型组中随机取 30 只分为三组: 自噬增强组给予腹腔注射雷帕霉素 (5 mg/kg 溶于二甲基亚砜和 PBS) 1 周; 自噬抑制组给予腹腔注射 3-MA (5 mg/kg 溶于 PBS) 1 周 模型组给予同等剂量的溶剂腹腔注射。

**1.2.2 自梳理实验** 自梳理实验用于描述大鼠刻板、重复行为。P42 将各组大鼠分别放置于标准鼠盒内(长 30 cm × 宽 25 cm × 高 20 cm) 盒底覆盖 1 cm 敷料 以阻止大鼠挖掘盒底 待大鼠在盒内适应 5 min 后 开始视频记录 10 min 观察每只大鼠的活动行为 再用秒表计数 10 min 内每只大鼠用于梳理身体各区域的累计时间。

**1.2.3 三箱实验** 三箱实验用于检测大鼠社会交互行为和好奇行为。自制木箱(长 120 cm × 宽 45 cm × 高 50 cm) 木箱中间用 2 块木板隔开 使中间格长 60 cm 左右格长均为 30 cm 2 块隔板下方各有 1 个大小适宜且可开关的门 可允许大鼠通过 在 2 边格子中各放 2 个铁丝鼠笼(可容纳 1 只大鼠)。P42 将待测大鼠放置中间格子中 并关闭两侧可控门让大鼠适应 5 min 后 打开两侧可控门 使大鼠在三个格子中可自由通行 再适应 5 min 然后在左边格子的鼠笼中放置 1 只陌生鼠(stranger1) 视频记录 10 min 随后在右边格子的鼠笼中放置另一只陌生鼠(stranger2) 且 stranger1 不取出 视频记录 10 min 分别计数 2 个 10 min 内大鼠在左右格子中的活动时间。

**1.2.4 Western blot 法检测 LC3-II、Beclin 1 和 PSD-95 的表达** 于 P42 冰上断颈处死大鼠 迅速取大鼠海马 称重后放入 EP 管中 加入适量 RIPA 裂解液(使用前已加入苯甲基磺酰氟 PMSF) 提取蛋白 用 BCA 蛋白定量试剂盒测定总蛋白浓度 取 40 μg 总蛋白样品于 10% SDS-PAGE 分离 半干转方法将蛋白转到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上 于 5% 脱脂

牛奶封闭 1 h 加入相应抗体(LC3-II 兔抗鼠多克隆抗体 1 : 1 000、Beclin 1 兔抗鼠多克隆抗体 1 : 1 000、PSD-95 兔抗鼠多克隆抗体 1 : 1 000、β-actin 兔抗鼠多克隆抗体 1 : 10 000) 4 ℃ 孵育过夜 次日洗膜后加入相应二抗(山羊抗兔 IgG 1 : 10 000) 室温孵育 2 h 洗膜 ECL 发光液显影曝光 用 Image J 软件对条带进行半定量分析。

**1.3 统计学处理** 使用 SPSS 17.0 软件进行分析 所有数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示 两组比较采用独立样本 *t* 检验 两组以上比较采用单因素方差分析。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 行为学检测** 自梳理实验结果显示: 大鼠自梳理身体各区域时间 模型组(45.9 ± 13.97) 比正常组(25.4 ± 9.00) 明显增加( $F = 3.842$   $P < 0.01$ ) 与模型组(治疗后)(47.2 ± 13.93) 比较 Rap 组梳理时间(28.3 ± 11.26) 显著减少 3-MA 组梳理时间(71.3 ± 8.84) 显著增加( $F = 34.898$   $P < 0.01$ ) 提示模型组有重复行为 而 Rap 组重复行为较模型组有所减轻 3-MA 组重复行为较模型组进一步加重。

三箱实验结果显示: 前 10 min 模型组在放有 stranger1 的格子中停留时间较正常组明显减少( $P < 0.01$ ) 而在放有空鼠笼(empty) 的格子中停留时间较正常组明显增加( $P < 0.01$ ); 与模型组(治疗后) 比较 Rap 组在 stranger1 的格子中停留时间增加( $P < 0.05$ ) 在 empty 的格子中停留时间减少( $P < 0.05$ ); 3-MA 组则相反 在 stranger1 的格子中停留时间减少( $P < 0.05$ ) 而在 empty 的格子中停留时长差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) 3-MA 组社会交往能力较模型组减弱。后 10 min 模型组在放有 stranger1 的格子中停留时间较正常组增加( $P < 0.05$ ) 而在放有 stranger2 的格子中停留时间较正常组减少( $P < 0.05$ ); 与模型组(治疗后) 比较 Rap 组在 stranger1 的格子中停留时间明显减少( $P < 0.01$ ) 在 stranger2 的格子中停留时间明显增加( $P < 0.05$ ); 3-MA 组在 stranger1 的格子中停留时间增加( $P < 0.01$ ) 在 stranger2 的格子中停留时间减少( $P < 0.01$ )。见表 1。

**2.2 Western blot 检测 LC3-II、Beclin 1 和 PSD-95 的蛋白表达水平** 与正常组比较 模型组海马 LC3-II、Beclin 1 蛋白表达水平下调( $P < 0.05$ ) ,

PSD-95 蛋白表达水平上调 ( $P < 0.05$ ) ; 与模型组 ( 治疗后 ) 相比 ,Rap 组 LC3-II、Beclin 1 蛋白表达水平上调 ( 均  $P < 0.05$  ) ,PSD-95 蛋白表达水平下调 ( $P < 0.05$  ) 3-MA 组 LC3-II、Beclin 1 蛋白表达水平下调 ( 均  $P < 0.05$  ) ,PSD-95 蛋白表达水平上调 ( $P < 0.05$  ) 。见图 1、2。

### 3 讨论

#### 3.1 VPA 化学干预法可成功诱导孤独症动物模型

VPA 是一种广泛使用的药物 ,主要用于预防癫痫、偏头痛和双相情感障碍<sup>[7,9]</sup> ,在母孕期暴露于丙戊酸可引起神经系统损伤。人类胚胎的中枢神经系统发育始于神经管 ,胚龄 20 ~ 24 d 为神经管闭合时间 ,这段时间对应到大鼠 E12.5 期间 ,该时间窗对孕鼠进行 VPA 治疗可诱导孤独症样行为<sup>[9-10]</sup> 。近年来 ,众多证据表明 ,母孕期暴露于丙戊酸可增加自闭症谱系障碍 ( ASD ) 的患病风险<sup>[11]</sup> 。VPA 诱导的子代鼠出现社会交往障碍<sup>[12]</sup> ,重复和刻板行为<sup>[8,12]</sup> ,这些发现为孤独症模型的建立提供有力的

证据。本研究参考 Schneider et al<sup>[8]</sup> 建模方法 ,该模型的解剖及发病机制与人类的十分相似<sup>[13]</sup> ,该动物模型中可以观察到 VPA 大鼠行为改变类似于孤独症患者行为障碍。自梳理实验显示 ,模型组较正常组理毛时间明显延长 ,提示模型组有重复、刻板行为 ;三箱实验显示 ,模型组在放有 stranger1 的格子中停留时间较正常组减少 ,而在放有空鼠笼的格子中停留时间较正常组增加 ,提示模型组缺乏社会交往能力 ,且模型组在放有 stranger1 的格子中停留时间较正常组增加 ,而在放有 stranger2 的格子中停留时间较正常组减少 ( $P < 0.05$  ) ,提示模型组缺乏对新鲜事物的偏好 ,孤独症患者主要表现为重复、刻板行为及社会交往障碍。本研究方法所诱导的孤独症行为成功的模拟了孤独症患者的行为障碍 ,表明该模型建立成功。

#### 3.2 增强自噬促进孤独症模型大鼠突触发育

突触是神经元之间在功能上发生联系的部位 ,也是信息传递的关键部位 ,其数量及结构的完整性对维持脑功能的正常发挥起着重要作用。突触发育依赖于

表 1 各组大鼠三箱实验比较 (  $n = 10$  ,  $\bar{x} \pm s$  )

组别	前 10 min				后 10 min			
	stranger1	F 值	Empty	F 值	stranger1	F 值	stranger2	F 值
正常组	336.5 ± 37.71	3.186	220.6 ± 41.69	0.287	228.9 ± 35.45	2.388	304.6 ± 37.18	5.037
模型组	286.7 ± 20.06**		291.2 ± 37.85**		269.5 ± 24.43**		274.4 ± 20.22*	
模型组 ( 治疗后 )	291.8 ± 29.74	12.374	284.2 ± 33.58	13.847	262.8 ± 23.77	17.640	270.5 ± 18.72	16.601
3-MA 组	256.1 ± 28.81#		306.5 ± 30.40		311.0 ± 33.20##		233.0 ± 34.86##	
Rap 组	330.7 ± 40.75#		225.9 ± 41.38#		229.9 ± 34.09#		304.1 ± 26.85#	

与正常组比较 : \*  $P < 0.05$  , \*\*  $P < 0.01$  ; 与模型组 ( 治疗后 ) 比较 : #  $P < 0.05$  , ##  $P < 0.01$

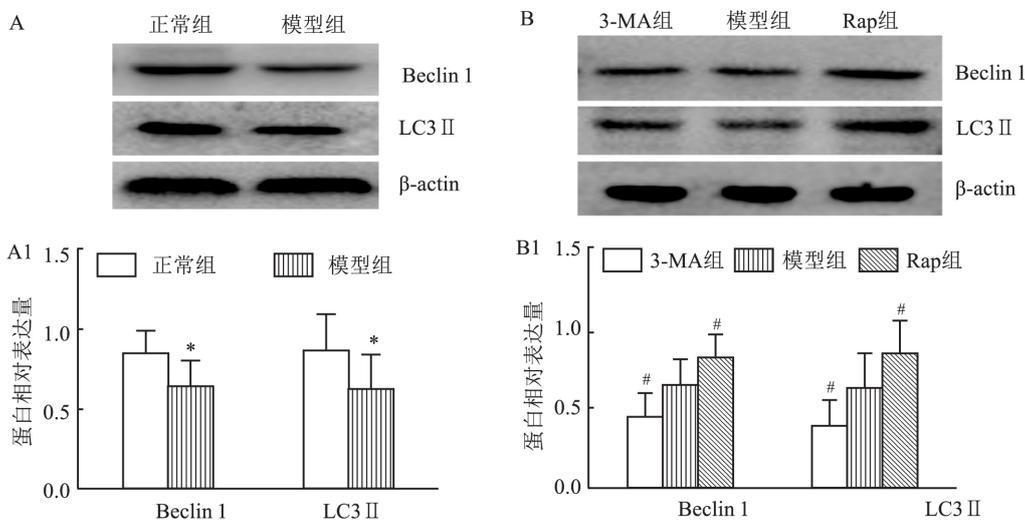


图 1 各组海马 Beclin 1、LC3 II 蛋白表达比较

A: 正常组与模型组 Beclin 1、LC3 II 免疫印迹检测结果; A1: 正常组与模型组 Beclin 1、LC3 II 蛋白表达量比较; B: 模型组 ( 治疗后 ) 与 3-MA 组和 Rap 组 Beclin 1、LC3-II 免疫印迹检测结果; B1: 模型组 ( 治疗后 ) 与 3-MA 组和 Rap 组 Beclin 1、LC3 II 蛋白表达量比较; 与正常组比较 : \*  $P < 0.05$  ; 与模型组 ( 治疗后 ) 比较 : #  $P < 0.05$

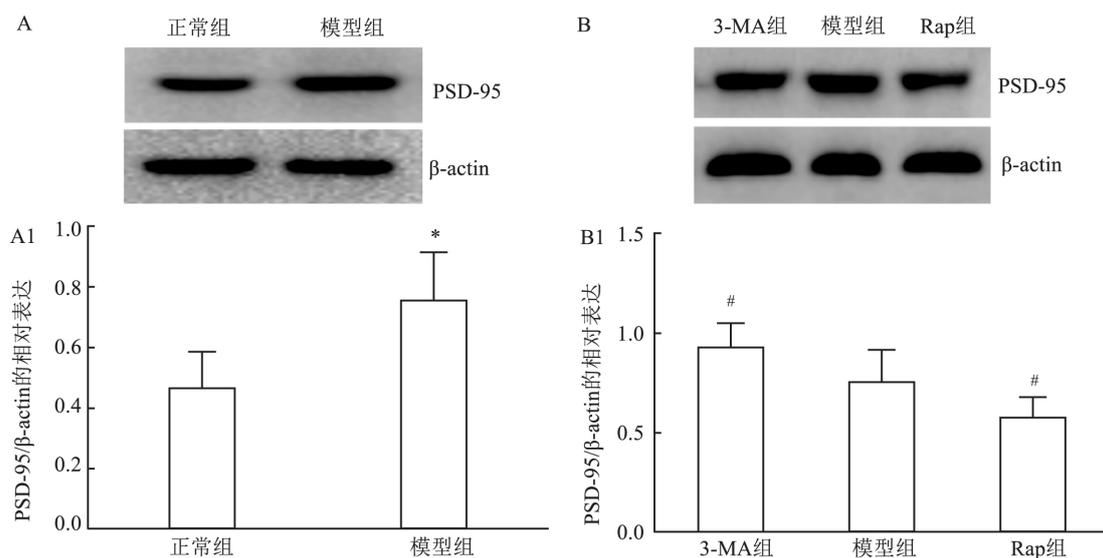


图2 各组海马 PSD-95 蛋白表达比较

A: 正常组与模型组 PSD-95 免疫印迹检测结果; A1: 正常组与模型组 PSD-95 蛋白表达量比较; B: 模型组(治疗后)与 3-MA 组和 Rap 组 PSD-95 免疫印迹检测结果; B1: 模型组(治疗后)与 3-MA 组和 Rap 组 PSD-95 蛋白表达量比较; 与正常组比较: \*  $P < 0.05$ ; 与模型组(治疗后)比较: #  $P < 0.05$

突触相关蛋白合成与降解之间的动态平衡<sup>[14]</sup>。Mashayekhi et al<sup>[15]</sup> 提出 SHANK3 作为孤独症发病机制的重要候选基因,该基因的缺失将导致突触功能障碍;相关研究<sup>[3,16]</sup> 显示 mTORC1-eIF4E 通路异常激活, mRNA 过度翻译,导致突触相关蛋白合成异常增强,突触发育失衡,引起孤独症。可见,突触相关蛋白合成与降解失衡,导致突触发育障碍,可能是引起孤独症的重要机制之一<sup>[7]</sup>。本课题组在前期研究中也证实孤独症大鼠前额叶皮质 synaptophysin、PSD-95 等突触相关蛋白表达异常增高。增强对过剩的突触相关蛋白的降解,恢复合成与降解间的动态平衡成为孤独症治疗的关键策略之一。自噬溶酶体系统是体内重要的蛋白降解途径,通过去除受损的细胞器和降解长寿或易聚集蛋白对细胞内环境平衡起着重要作用<sup>[4-5,7]</sup>,增强自噬可能通过促进突触蛋白的降解,改善孤独症的社交行为障碍。本研究通过母孕期化学干预法建立孤独症模型,证实孤独症大鼠自噬活性降低,突触相关蛋白 PSD-95 异常增高,进一步运用自噬增强剂(雷帕霉素)和自噬抑制剂(3-MA)于 P35 干预孤独症模型,结果显示增强自噬促进了突触相关蛋白 PSD-95 的降解,显著改善了社会交互障碍和刻板重复运动等孤独症样行为;反之,给予自噬抑制剂(3-MA)干预后,突触相关蛋白 PSD-95 进一步增多,孤独症样行为进一步加重。可见,增强自噬可改善孤独症大鼠突触发育,进一步改善孤独症大鼠行为,这一结果与 Sato et al<sup>[6]</sup> 研

究一致,其研究发现运用自噬增强剂雷帕霉素处理孤独症、结节性硬化症小鼠模型,发现增强自噬可显著逆转小鼠模型的社会交互障碍。Tang et al<sup>[7]</sup> 研究发现 mTOR 过度活化,导致自噬缺陷,引起孤独症样行为改变,并引起突触功能障碍,雷帕霉素治疗可改善孤独症样行为和突触发育。

### 参考文献

- [1] Berkowicz S R, Featherby T J, Qu Z, et al. Brinp1(-/-) mice exhibit autism-like behaviour, altered memory, hyperactivity and increased parvalbumin-positive cortical interneuron density [J]. Mol Autism, 2016, 7(1): 22-41.
- [2] Folstein S E, Rosen-Sheidley B. Genetics of autism: Complex aetiology for a heterogeneous disorder [J]. Nat Rev Genet, 2001, 2(12): 943-55.
- [3] Gkogkas C G, Khoutorsky A, Ran I, et al. Autism-related deficits via dysregulated eIF4E-dependent translational control [J]. Nature, 2013, 493(7432): 371-7.
- [4] Gozes I. The cytoskeleton as a drug target for neuroprotection: The case of the autism-mutated ADNP [J]. Biol Chem, 2016, 397(3): 177-84.
- [5] Di N A, Wertz M H, Kwiatkowski E, et al. Neuronal Tsc1/2 complex controls autophagy through AMPK-dependent regulation of ULK1. [J]. Hum Mol Genet, 2014, 23(14): 3865-74.
- [6] Sato A, Kasai S, Kobayashi T, et al. Rapamycin reverses impaired social interaction in mouse models of tuberous sclerosis complex [J]. Nat Commun, 2012, 3(4): 1292-300.
- [7] Tang G, Gudsnek K, Kuo S H, et al. Loss of mTOR-dependent macroautophagy causes autistic-like synaptic pruning deficits [J].

- Neuron, 2014, 83(5): 1131–43.
- [8] Schneider T, Przew Lstrokocki R. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: Animal model of autism [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2005, 30(1): 80–9.
- [9] Kim K C, Kim P, Go H S, et al. The critical period of valproate exposure to induce autistic symptoms in Sprague-Dawley rats. [J]. *Toxicol Lett*, 2011, 201(2): 137–42.
- [10] Altman J, Bayer S A. Development of the brain stem in the rat. I. Thymidine radiographic study of the time of origin of neurons of the lower medulla [J]. *J Comp Neurol*, 1980, 194(4): 905–29.
- [11] Smith V, Brown N. Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism [J]. *JAMA*, 2013, 309(16): 1696–703.
- [12] Bambini-junior V, Rodrigues L, Behr G A, et al. Animal model of autism induced by prenatal exposure to valproate: Behavioral changes and liver parameters. [J]. *Brain Res*, 2011, 1408: 8–16.
- [13] Sandhya T, Sowjanya J, Veeresh B. Bacopa monniera (L.) wettst ameliorates behavioral alterations and oxidative markers in sodium valproate induced autism in rats [J]. *Neurochem Res*, 2012, 37(5): 1121–31.
- [14] Bingol B, Sheng M. Deconstruction for reconstruction: The role of proteolysis in neural plasticity and disease [J]. *Neuron*, 2011, 69(1): 22–32.
- [15] Mashayekhi F, Mizban N, Bidabadi E, et al. The association of SHANK3 gene polymorphism and autism [J]. *Minerva Pediatr*, 2016 [Epub ahead of print].
- [16] Santini E, Huynh T N, Macaskill A F, et al. Exaggerated translation causes synaptic and behavioral aberrations associated with autism [J]. *Nature*, 2013, 493(7432): 411–5.

## The role of autophagy in behavioral changes and hippocampal PSD-95 protein expression in autism model rats

Liu Fen<sup>1,2</sup>, Zhou Bo<sup>3</sup>, Wen Min<sup>4</sup>, et al

(<sup>1</sup>School of Clinical Medicine, <sup>3</sup>Dept of Biological Technology, <sup>4</sup>Dept of Anatomy, Guizhou Medical University, Guiyang 550004; <sup>2</sup>Dept of Pediatrics, The Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004)

**Abstract Objective** To observe the expression of synaptic associated proteins in autistic rats before and after autophagy intervention, and to explore the mechanism of autophagy in synaptic development of autistic rats. **Methods**

Wistar rats were given a peritoneal injection of sodium valproate (VPA) 12.5 d (E12.5) after maternal pregnancy intervention, and the offspring was autism model group. The same method was used to inject the same dose of saline in pregnant rats E12.5, the offspring of normal group. The self-grooming test and three-chamber sociability test were used to verify the success of the model. And then on P35-42, 30 autism models were randomly divided into three groups, autophagy enhancement group (Rap group), intraperitoneal injection of rapamycin (5 mg/kg), autophagy inhibition group (3-MA group), intraperitoneal injection of 3-methyladenin (5 mg/kg), model group, intraperitoneal injection of equivalent volume of vehicle. The self-grooming test and three-chamber sociability test were used to compare the changes of social behavior before and after autophagy intervention. Western blot was used to detect the expression of autophagy and synaptic associated proteins before and after autophagy intervention. **Results**

① The model of autism was established successfully. Compared with the control group, the grooming time of the model was significantly prolonged ( $P < 0.01$ ), and the lack of social communication ability and preference for social novelty. Compared with the model group (post-treatment), the grooming time of the Rap group was decreased ( $P < 0.01$ ) and the 3-MA group was prolonged ( $P < 0.01$ ), the social communication ability of the Rap group was improved and the 3-MA group was worsened. ② Compared with the control group, the expression of LC3-II ( $P < 0.05$ ) and Beclin 1 ( $P < 0.05$ ) was decreased and the expression of PSD-95 ( $P < 0.05$ ) was increased in the hippocampus of the model group on P42. Compared with the model group (post-treatment), the expression of LC3-II ( $P < 0.05$ ) and Beclin 1 ( $P < 0.05$ ) was increased and the expression of PSD-95 ( $P < 0.05$ ) was decreased in the Rap group, while the 3-MA group was opposite. **Conclusion** Enhanced autophagy can regulate synaptic development in autism rats, enhanced autophagy may be a potential therapeutic strategy.

**Key words** autism; autophagy; synaptic; rapamycin; 3-methyladenine