

杨东明,杨利峰,赵德明,等. 帕金森病动物模型的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(3): 397-404.

Yang DM, Yang LF, Zhao DM, et al. Research progress regarding animal models of Parkinson's disease [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(3): 397-404.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.03.016

帕金森病动物模型的研究进展

杨东明,杨利峰*,赵德明,周向梅

(中国农业大学动物医学院,北京 100193)

【摘要】 帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种严重危害人体健康的神经退行性疾病。其典型病理变化为黑质纹状体内多巴胺能神经元坏死、缺失,以及表现出诸多运动障碍。该病因尚未研究清晰,使用相关动物模型对研究该病具体作用机制与治疗手段具有重要意义。针对目前有关PD动物模型的研究现状,本文梳理了不同PD动物模型的特点,讨论了不同动物种类在PD模型中的不同特征,比较了动物模型与PD患者的临床差异,旨在为进一步深入开发PD动物模型提供参考。

【关键词】 帕金森病,动物模型,神经毒素,转基因,神经退行性疾病

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020)03-0397-08

Research progress regarding animal models of Parkinson's disease

YANG Dongming, YANG Lifeng*, ZHAO Deming, ZHOU Xiangmei

(College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Corresponding author: YANG Lifeng. E-mail: yanglf@cau.edu.cn

【Abstract】 Parkinson's disease (PD) is a serious neurodegenerative disease. Typical pathological changes associated with PD are cellular necrosis and the loss of dopaminergic neurons in many areas of brain, as well as the appearance of multiple dyskinesias. Although the etiology of PD has not been clarified, the use of animal models plays a vital role in investigating the mechanisms of PD. In this article, we review the characteristics of different animal models of PD, discuss the characteristics of different animal species, and compare the clinical differences between animal models and PD patients to provide fundamental support for future PD research.

【Keywords】 Parkinson's disease, animal model, experimental animal, neurodegenerative disease

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种严重危害机体神经系统的退行性病变。其病变过程主要表现为黑质纹状体发生严重的坏死、缺失,引起多巴胺能神经元退化,最终导致患者表现出典型临床症状,即一系列运动失调症状(肌肉强直、震颤麻痹、运动障碍)及伴有消化与内分泌紊乱症状^[1-2]。

该病病因复杂,病程缓慢,给研究其具体发生机制造成困难。

PD相关动物模型种类多样,发展迅速。现有PD动物模型按照其处理方式主要分为以下三类:神经毒素模型(neurotoxic models)、转基因模型(genetic models)与二者连用模型。不同种类的PD

【基金项目】 十三五国家重点研发计划(2017YFD0501600)。

Funded by National Key R&D Program during the 13th Five-year Plan Period (2017YFD0501600).

【作者简介】 杨东明(1995—),男,博士。Email: 1048948191@qq.com

【通信作者】 杨利峰(1980—),女,教授,博士,研究方向:神经退行性疾病发生机制。Email: yanglf@cau.edu.cn

动物模型为研究 PD 相关作用机制及治疗手段提供了有力帮助,具有重要意义。本文着眼于现有 PD 动物模型相关研究进展,梳理了不同 PD 动物模型的特点,讨论了不同动物种类在 PD 模型中的主要特征,比较了动物模型与 PD 患者的临床差异,旨在为进一步深入开发 PD 动物模型提供参考。

1 神经毒素模型 (neurotoxic models)

神经毒素模型是最早使用在 PD 研究中的动物模型,也是目前最常用来评价 PD 治疗效果的手段之一。该类模型较其他模型优势明显,以其相对简单的操作与较低的成本,受到了研究者的青睐,在实际研究中使用较为广泛。目前使用最多的神经毒素主要为:6-羟基多巴胺 (6-hydroxydopamine, 6-OHDA)、1-甲基-4-苯基-1, 2, 3, 6-四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine, MPTP)、农药类神经毒素。其具体作用机制主要是通过抑制神经细胞的呼吸复合物 I,从而导致一系列类 PD 病变^[3]。当该类物质作用于动物机体后,会迅速引起黑质、纹状体的严重变性,导致机体产生十分强烈的运动失调症状;但这些运动症状与 PD 患者的运动症状具有较大差异。此外,由于其病程十分迅速,且病变主要为多巴胺能神经元坏死、缺失,所以该类动物模型一般不会观察到 PD 典型病理变化,即病变突触核蛋白在神经系统中的大量沉积^[4]。因此,该类模型大多反应晚期、长期的 PD 状态,适合研究黑质、纹状体内多巴胺能神经元的退行性变化过程及治疗手段的恢复进程^[5]。

1.1 6-羟基多巴胺 (6-hydroxydopamine, 6-OHDA)

6-羟基多巴胺 (6-OHDA) 是一种结构类似于儿茶酚胺的物质,于 1960 年首次用于 PD 动物模型的研究中^[6]。该物质具有亲水性,无法直接穿透血脑屏障,使用时须通过特定的定位程序,将该物质直接注射在目标区域内,一般为黑质、纹状体、内侧前脑束。其具体作用机制为:该物质迅速引发非酶促氧化反应,抑制膜转运蛋白功能;导致大量氧化物质与神经递质蓄积,抑制呼吸复合物 I 的相关功能,破坏线粒体的正常运转,进一步导致多巴胺能神经元坏死、缺失,使机体神经系统出现退行性现象^[7]。

该模型的特点是病程迅速,缺少渐进性病变与突触核蛋白沉积现象。使用该物质时,不同的注射方式通常会产生不同的病理变化与临床症状。当注射在纹状体时,神经症状通常表现较为缓慢,病程较轻,但当注射在黑质或内侧前脑束时,神经症状表现迅速,病程较重,可见明显的细胞变性、坏死^[8];当单侧注射时,其运动症状较为明显且一般不会出现双侧运动障碍,利于实验者观察,并且通常不会导致脂质代谢紊乱、失语症状、焦虑症与嗅觉失灵,安全性较高^[9],而双侧注射则不然,所以该模型通常选择单边注射,以期达到必要的实验结果。目前,该模型主要用于 PD 的细胞、分子水平研究,治疗效果评价等方面。例如,在该模型中,观察者研究发现基底神经节的谷氨酸转移水平显著增加;黑质、纹状体内的突触可塑性由于该区域多巴胺能神经元的缺失而显著改变^[10-11];左旋多巴、深层或双侧脑部刺激等治疗手段均可通过恢复黑质、纹状体的突触传递功能,而改善运动症状^[12]。

1.2 MPTP

MPTP 主要破坏多巴胺能神经元,是一种高亲脂性、呼吸复合物 I 抑制剂。它可以轻松穿过血脑屏障,作用于大脑特定区域,导致运动症状。该物质无毒,可全身给药,获得实验性 PD 模型^[13]。其作用机制为:MPTP 与星形胶质细胞中的单胺酶 B 结合并氧化,最终形成有毒物质 MPP⁺;MPP⁺ 通过相应转运蛋白进入多巴胺能神经元中积聚,当到达一定量后,该物质通过囊泡转运蛋白进入突触小泡,最终抑制呼吸复合物 I 的功能,干扰线粒体电子传递链作用,最终导致 ATP 合成下降,线粒体损伤^[14]。该模型最大特点为:病程渐进且与 PD 患者临床症状最为吻合;可观察到突触核蛋白沉积现象,而这一特点是目前大多数 PD 动物模型所不具有的。不同动物种类具有不同的 MPTP 敏感性。灵长类动物较啮齿动物敏感性较高;啮齿动物中,小鼠敏感性最高,并且由于小鼠饲养条件简单,成本较低且操作简单,故 MPTP 小鼠模型使用最为广泛^[15]。此外,不同注射方法也会导致不同的临床现象。单次高剂量脑内注射或重复低剂量腹膜内注射通常会导致黑质纹状体产生明显的多巴胺能神经元病变及较为显著的运动症状,而低剂量注射则

可观察到渐进性多巴胺能神经元的损伤与相应的运动症状^[16-18];不论是何种剂量,MTPT 导致的运动症状一般是可通过行为学标准进行评估。

1.3 鱼藤酮

鱼藤酮是一种广泛使用于农业生产的除草剂、杀虫剂与除螨剂,属于类胡萝卜素神经毒素类物质^[19]。该物质最早发现于热带植物中,具有高度亲脂性,极易穿过血脑屏障,其主要特征是进入多巴胺能神经元不依赖多巴胺转运受体。进入神经元细胞后,该物质会主要作用于线粒体呼吸链复合物 I,抑制有关蛋白酶活性,增加 ROS 含量,使线粒体处于氧化应激状态,进而降低多巴胺与谷胱甘肽代谢水平,增加脂质过氧化反应,加剧细胞氧化损伤^[20-21]。研究证明,鱼藤酮在不同实验条件下的致病速度也不尽相同,存在较大差异。体外实验表明:鱼藤酮会显著引起细胞凋亡与内质网应激反应,其导致病变的速度十分迅速;而当体内静脉注射后,其作用速度相对缓慢,长时间作用后,会出现较为显著的黑质纹状体多巴胺能神经元坏死与突触核蛋白沉积及典型的运动症状,如运动迟缓,肌肉强直,体位不稳,步态不稳等^[22]。此外,体内注射还可见明显的铁离子沉积与小胶质细胞增生。研究还表明,不同的注射方式会产生不同的病理现象^[23]。通常所采用的经脉注射会导致高死亡率,产生显著多巴胺能神经元坏死与典型运动症状,但其病理现象不可重复,具有个体差异;当采用双侧注射时,动物也会表现多巴胺能神经元坏死,并同时伴有明显运动失调与机体僵直,且通过左旋多巴治疗后,可缓解上述症状;而当胃内给药时,鱼藤酮会导致突触核蛋白最先沉积在胃神经丛中,并逐步转移到迷走神经背侧核,最终侵害中枢神经,而该现象也直接支持了 PD 疾病起源于肠道的假说^[24]。总的来说,鱼藤酮模型使用广泛,可较为全面地复制 PD 病理症状与运动特征,以其操作简单,成本低廉是该模型的主要优点,但该物质引发高死亡率、非典型性 PD 症状是该模型的缺点^[24-25]。

1.4 百草枯

百草枯是一种毒性极大的除草剂,主要是以 1-1-二甲基-4-4-联吡啶阳离子盐为化学结构的物质,与 MPP⁺结构极为相似,但该类物质不能透过血

脑屏障,主要通过氨基酸转运受体进入大脑,通过激活诸如死亡受体途径、线粒体信号途径、内质网应激途径等多种途径造成神经细胞凋亡,加速神经元自噬,最终导致神经元坏死^[26-27]。临床研究发现:长期注射该物质后,小鼠会表现出显著的运动症状,大鼠则会表现典型的焦虑与嗅觉障碍等症状。该物质进入神经细胞后,通过氧化应激反应,产生大量 ROS;同时,该物质还会破坏谷胱甘肽的氧化还原平衡,使得具有毒性作用的谷胱甘肽大量堆积,最终破坏了细胞的抗氧化机制,使得细胞代谢紊乱。值得注意的是,百草枯对线粒体复合物 I 的亲和力较低,其造成神经毒性作用不会抑制线粒体复合物 I 的作用^[28]。虽然该物质对黑质纹状体多巴胺能神经元毒性作用机制目前尚未研究清晰,但多项研究表明,静脉注射百草枯会导致运动功能障碍,多巴胺能神经元坏死(其坏死程度与注射剂量有关),纹状体神经纤维缺失,但不会改变纹状体神经节释放多巴胺的含量^[29-30]。进一步研究表明:注射高剂量的百草枯会通过氨基酸转运受体进入多巴胺能神经元细胞中,同时通过有机阳离子转运受体进入非多巴胺能神经元细胞中,最终导致严重的神经细胞死亡,且该损伤现象并非只局限在多巴胺能神经元中^[31]。百草枯动物模型的最大优点在于该模型可模拟 α -突触核蛋白过表达与沉积现象,并最终表现沉积在黑质纹状体的多巴胺能神经元中,而这一现象与 PD 患者的临床表现最为贴近^[32]。

1.5 其他神经毒性物质

除了上述神经毒性物质外,其他常见的神经毒性物质还包括代森锰、三氯乙烯、苯丙胺类精神兴奋剂等。代森锰可抑制呼吸复合物 III 功能^[33]。该物质与百草枯组合使用可显著导致黑质体内多巴胺能神经坏死、缺失^[34]。最新研究发现三氯乙烯可导致啮齿动物纹状体内多巴胺能神经元损伤,模拟 PD 相关症状^[35]。苯丙胺类精神兴奋剂具有极强的神经毒性,可显著造成神经元损伤与坏死。其作用机制主要是其极强的促单胺释放与抑制单胺吸收的能力,最终导致神经纤维的损伤与血清毒素的增加。苯丙胺类精神兴奋剂模型可用于儿茶酚胺能神经元的损伤过程及易感性,但在 PD 研究中该模

型使用较少^[36]。

2 转基因模型

随着基因技术的逐步推广与深入,基因技术造模研究的深入开发与应用在诸多疾病的机制研究中发挥了重要作用。近年来,越来越多与 PD 相关的遗传因素被发现,研究者通过使用遗传学的相关方法,对特定物种进行 PD 相关基因修饰,可制造出与 PD 相关的转基因动物模型^[37]。目前常用的制备手段主要为基因敲除与转基因技术。

有关 PD 遗传基因的研究发现:干扰或调控与线粒体和能量相关的特定基因会导致 PD 发生,并通过大量基因分析技术包括连锁不平衡分析、家系连锁分析和全基因组扫描等,由此推动与 PD 相关的 20 个相关基因与 25 个遗传因素的深入研究。目前,可将 PD 相关基因划分为“PARK”(18)和“非 PARK”(> 20)基因。迄今为止,已有 8 个基因位点的基因序列被克隆,包括与常染色体显性遗传 PD 相关基因(α -突触核蛋白、LRRK2、UCH-L1),与常染色体隐性遗传 PD 相关基因(Parkin、PINK1、DJ-1、HTRA2、ATP13A2)两类^[38]。通过转基因技术对这些相关基因序列进行操控可获得相关 PD 转基因动物模型,拓宽模型种类。该转基因模型具体分为 SNCA(α -突触核蛋白, PARK1 和 4), PRKN(parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase, PARK2), PINK1(PTEN-induced putative kinase 1, PARK6), DJ-1(PARK7)和 LRRK2(leucine-rich repeat kinase 2, PARK8)^[39-40]。且在这些动物模型中,SNCA 模型最为常见,使用最为广泛。虽然在这些转基因模型中很少观察到黑质、纹状体等区域的神经损伤,但其为研究 PD 的病理变化和发病机理,以及从基因分子水平揭示 PD 发病机制提供了研究基础。

2.1 α -突触核蛋白

α -突触核蛋白是一种可溶性小蛋白,主要在中枢神经突触前与核周附近表达^[41]。其参与膜蛋白与囊泡调节的动态平衡。研究发现该蛋白相关基因在家族遗传性 PD 中起主导作用,称为 PARK1 基因。有关家族遗传性 PD 的研究发现,该基因突变会导致家族遗传性 PD;并且,只有该基因发生点突变或 3 个以上的位点突变时,发生 PD 疾病的概率

将显著增加^[42-43]。该转基因动物模型会产生类 PD 运动症状,但有关黑质、纹状体内的神经损伤症状尚未见到。

2.2 Parkin

Parkin 是泛素连接酶的一种,由 PRKN 基因编码。研究发现该酶失活会导致家族性与散发性 PD,且患者普遍具有早发性^[44]。现有研究已经明确了超过 200 个 Parkin 相关基因与 PD 具有显著相关性,且大多为隐性遗传,其遗传率不论是在纯合子生物还是杂合子生物中均高达 100%^[45]。其具体作用机制为:该类基因功能障碍导致线粒体内蛋白表达紊乱,造成线粒体功能受损,引发线粒体功能障碍。敲除 Parkin 相关基因的动物模型是最早使用的 PD 转基因动物模型之一^[46]。最新研究表明,激活 Parkin 相关基因,可改善线粒体功能,恢复 PD 运动症状,或可治疗 PD 疾病。此外, Parkin 相关基因过度表达会保护黑质免受其他神经毒素作用,如 6-OHDA、病变突触核蛋白等。这一发现或为 PD 治疗提供新的思路。

2.3 PINK1

PINK1 是线粒体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的一种,与线粒体功能稳定性密切相关。约有 4% ~ 9% 的亚洲人群和 2% ~ 4% 的白种人的早发性 PD 由该基因突变所致^[47]。该基因在感受线粒体相关膜电位、激活 Parkin 酶活性,促进损伤线粒体降解中发挥了重要作用^[48]。研究发现, PINK1 基因突变会导致常染色体隐性 PD 发生。该基因动物模型通常不表现出典型的 PD 病变—突触核蛋白沉积。而这一现象与患者剖检结果一致^[49]。此外, PINK1 基因敲除小鼠还会表现出嗅觉和步态障碍,与 PD 患者的前驱症状相似。因此, PINK1 敲除模型可用于研究前驱阶段的 PD^[50]。

2.4 DJ-1

DJ-1 基因编码的蛋白作用广泛,可参与基因转录调节、氧化应激、线粒体功能调节等活动^[51]。该基因突变会造成氧化应激反应功能紊乱,导致常染色体隐性 PD^[52]。其具体作用机制目前尚未研究清晰,该模型多用于 PD 基础研究。不同动物类型的该基因敲除模型具有显著差异。小鼠模型通常表现出中度运动障碍,且未见多巴胺能神经元坏

死^[53],而大鼠模型通常会表现为黑质纹状体区域神经元坏死、缺失,并伴有运动功能障碍的临床症状^[54]。

3 转基因与神经毒素联用模型

最新研究发现,上述转基因动物更容易受到神经毒素的作用,使造模效果更为显著。例如,将 MTPT 作用于 DJ-1 缺失小鼠后,其神经元坏死、缺失更为显著,并且该模型或可为 Dual-hit 假说提供新的证据^[55]。将鱼藤酮长期作用于 α -突触核蛋白转基因小鼠可观察到 PD 经典三联征,即进行性运动障碍、黑质纹状体变性与 α -突触核蛋白过表达。在 α -突触核蛋白基因敲除 PD 啮齿动物模型中注射 6-OHDA 后,表现出黑质纹状体内大量多巴胺能神经元持续缺失与渐进性损伤,但不诱导 α -突触核蛋白过表达,可研究神经性物质与 PD 相关基因之间的相互作用关系^[56]。在双侧黑质纹状体内过表达 α -突触核蛋白的小鼠体内给予亚急性 MPTP 后,可观察到黑质纹状体对 MPTP 的敏感性显著增加。因此,通过联用模型,使得研究 PD 相关基因与神经毒素间的相互作用成为可能^[57]。不仅如此,联用模型还可以使我们更加全面地了解 PD 疾病所导致线粒体的具体损伤过程,展示 PD 相关基因与机体的相互作用,了解外界环境是如何诱发 PD 疾病。因此,转基因与神经毒素联用模型在研究 PD 疾病作用机制中具有重要作用。

4 动物类型

PD 动物模型使用动物种类广泛、多样。按其具体分类,可大致分为四类,包括啮齿类、灵长类、其他哺乳动物(小型猪、狗、猫)和其他动物(秀丽隐杆线虫(*C. elegans*)、果蝇、斑马鱼)。啮齿类动物在神经毒素模型中使用最为广泛,是经典的造模动物种类。其优点主要为:(1)大小适中,其解剖结构与临床症状与 PD 病人最为相似。(2)饲养条件简单,成本较低^[58]。(3)操作最为简单,伦理问题较少。而转基因动物最常使用其他动物,包括秀丽隐杆线虫、果蝇等生物。其主要原因是由于这类动物

结构简单,基因组信息较易获得,且生命周期较短。灵长类动物在 PD 研究中使用较早,其优缺点分明,且该类动物在每次实验中使用数量较少。其优点主要是该类动物与人类进化亲缘性最高,实验结果最为接近,但缺点是饲养、操作复杂,成本较高,且使用数量局限,涉及伦理问题较多。

5 总结

在 PD 众多动物模型中,神经毒性模型使用最多,范围最广。其优势主要在于其操作简单,成本较低,结果重复性较好。其他两类模型使用范围相对较小,但纵观现有研究可以发现,这两类 PD 动物模型的使用呈增加趋势。这 3 类动物模型具有各自鲜明的特点,其均从不同的角度解释了 PD 的发生机制,如何根据研究内容去选择具体种类的 PD 动物模型就显得尤为重要。同时,虽然这些 PD 动物模型从不同角度、不同作用机制模拟 PD 的发生,但不可否认的是,PD 患者所表现出的病变与症状与动物模型所反映的仍存在现实差异,因此,我们应该着眼于具体研究所使用的 PD 动物模型的有效性与结果的可重复性。与此同时,如何通过新兴研究技术,使 PD 动物模型最大程度贴合 PD 患者的临床症状就是我们研究的主要目标。这里我们具体展示了不同种类的 PD 动物模型的各自特点并罗列了其于 PD 患者所存在的具体差异(详见表 1)。最新研究技术诸如 CRISPER/CAS9 与光遗传推动了 PD 的研究进展^[59-60],但是,这些新模型的有效性还需要在后续研究中进一步验证。

当然,除了本文中所讨论的 PD 动物模型外,在相关研究中还存在其他一些 PD 动物模型。例如突触核蛋白沉积模型。其具体做法为:将含有病变突触核蛋白的脑匀浆注射到实验动物体内,制造 PD 动物模型。虽然通过类似操作获得的 PD 动物模型还未得到研究者的普遍认同,但这些动物模型在研究 PD 中确实发挥了重要作用。因此,这再一次体现了确认 PD 动物模型有效性与可重复性的重要性。

表 1 不同类型 PD 动物模型的特征分析及与 PD 患者的差异比较

Table 1 Summary and difference of the main models of PD

种类 Categories	动物模型 PD animal models	主要作用机制 Main pathway	主要作用途径 Use methods	黑质纹状体退化 Degeneration of substantia nigra	突触小体沉积 Deposition of synapse	运动症状 Animal behaviors	与 PD 患者症状的差别 Differences with PD patients
神经毒素模型 Neurotoxic models	6-OHDA	抑制线粒体复合体 I Inhibition of mitochondrial complex I	注射在黑质体、前脑内侧束、纹状体 Injection into the substantia nigra, medial forebrain bundle, and striatum	+	-	+	1.运动症状具有渐进性变化 2.无突触核蛋白沉积现象 3.病理变化完全不同 1. Progressive changes in motor symptoms 2. No synuclein deposition 3. Pathological changes are completely different
	MPTP	抑制线粒体复合体 I Inhibition of mitochondrial complex I	全身性注射(单次或多次) Systemic injection single or multiple injections	+	-	+	1.无运动症状 2.病理变化完全不同 1. No movement symptoms 2. Pathological changes are completely different
	农药类物质 Pesticides	不同物质不同,主要为抑制线粒体复合体 I,产生活性氧物质 Different materials have different effects, mainly through inhibition of mitochondrial complex I by production of reactive oxygen species	不同物质不同 Different materials have different effects	+	+/-	+	1.运动症状发展迅速 2.病理变化完全不同 1. Movement symptoms develop rapidly 2. Pathological changes are completely different
转基因模型 Genetic model	突触核蛋白 PARK1,4	突触核蛋白沉积造成毒性 Causing toxicity by synuclein deposition	过表达、突变、注射突变体 Overexpression, mutation, and injection mutant	+	+	+	1.运动症状相对较少 2.突触核蛋白沉积现象较少 3.多巴胺能神经元坏死,缺失现象较少
	Parkin	泛素连接酶 E3 失活 Ubiquitin ligase E3 inactivation	突变 Mutations	+/-	+/-	+/-	1. Relatively few motor symptoms 2. Less synapse protein deposition 3. Less necrosis and loss of dopaminergic neurons
	PINK1 PARK6	线粒体损伤 Mitochondrial damage	敲除 Knockout	+/-	+/-	+/-	
	DJ-1(PARK7)	氧化应激、线粒体功能失调 Oxidative stress and mitochondrial dysfunction	敲除 Knockout	+/-	+/-	+/-	

参 考 文 献(References)

[1] Olanow CW. The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease-2007[J]. Mov Disord, 2007, 22(17): S335-S342.

[2] Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2008, 79(4):368-376.

[3] Van Kampen JM, Robertson HA. The BSSG rat model of Parkinson's disease: progressing towards a valid, predictive model of disease [J]. EPMA J, 2017, 8(3):261-271.

[4] Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models [J]. Neuron, 2003, 39(6): 889-909.

[5] Sandeep M, Hemant K, Duk-Yeon C, et al. Toxin-induced experimental models of learning and memory impairment [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(9):1447.

[6] Ungerstedt U. 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of central monoamine neurons [J]. Eur J Pharmacol, 1968, 5(1): 107-110.

[7] Sauer H, Oertel WH. Progressive degeneration of nigrostriatal dopamine neurons following intrastriatal terminal lesions with 6-hydroxydopamine: A combined retrograde tracing and immunocytochemical study in the rat [J]. Neuroscience, 1994, 59(2):401-415.

[8] Przedborski S, Leviver M, Jiang H, et al. Dose-dependent lesions of the dopaminergic nigrostriatal pathway induced by

- intrastratial injection of 6-hydroxydopamine [J]. *Neuroscience*, 1995, 67(3): 631-647.
- [9] Kuruvilla KP, Nandhu M, Paul J, Paulose C. Oxidative stress mediated neuronal damage in the corpus striatum of 6-hydroxydopamine lesioned Parkinson's rats: Neuroprotection by Serotonin, GABA and Bone Marrow Cells Supplementation [J]. *J Neurol Sci*, 2013;331(1-2):31-37.
- [10] Gubellini P, Picconi B, Bari M, et al. Experimental Parkinsonism alters endocannabinoid degradation: implications for striatal glutamatergic transmission [J]. *J Neurosci*, 2002;22(16):6900-7.
- [11] Blandini F, Levandis G, Bazzini E, et al. Time-course of nigrostriatal damage, basal ganglia metabolic changes and behavioural alterations following intrastratial injection of 6-hydroxydopamine in the rat: new clues from an old model [J]. *Eur J Neurosci*, 2007, 25(2): 397-405.
- [12] Larramendy C, Taravini IR, Saborido MD, et al. Cabergoline and pramipexole fail to modify already established dyskinesias in an animal model of Parkinsonism [J]. *Behav Brain Res*, 2008, 194(1): 44-51.
- [13] Langston JW, Ballard P. Parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-L-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP): implications for treatment and the pathogenesis of Parkinson's disease [J]. *Can J Neurol Sci*, 1984, 11(S1): 160-165.
- [14] Bezdard E, Dovero S, Prunier C, et al. Relationship between the appearance of symptoms and the level of nigrostriatal degeneration in a progressive 1-methyl-4-phenyl-L-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-lesioned macaque model of Parkinson's disease [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(17): 6853-6861.
- [15] Cui M, Aras R, Christian WV, et al. The organic cation transporter-3 is a pivotal modulator of neurodegeneration in the nigrostriatal dopaminergic pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(19): 8043-8048.
- [16] Javitch JA, Uhl GR, Snyder SH. Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-4-phenyl-L-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine: characterization and localization of receptor binding sites in rat and human brain [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1984, 81(14): 4591-4595.
- [17] Bezdard E, Gross CE, Fournier M-C, et al. Absence of MPTP-induced neuronal death in mice lacking the dopamine transporter [J]. *Exp Neurol*, 1999, 155(2):268-273.
- [18] Guillot TS, Miller GW. Protective actions of the vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2) in monoaminergic neurons [J]. *Mol Neurobiol*, 2009, 39(2):149-170.
- [19] Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, et al. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease [J]. *Nat Neurosci*, 2000, 3(12):1301-1306.
- [20] Gubellini P, Kachidian P. Animal models of Parkinson's disease: an updated overview. *Revue neurologique* [J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2015, 171(11): 750-761.
- [21] Ryu EJ, Harding HP, Angelastro JM, et al. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in cellular models of Parkinson's disease [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(24): 10690-10698.
- [22] Greenamyre JT, Betarbet R, Sherer TB. The rotenone model of Parkinson's disease: genes, environment and mitochondria [J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2003, 9: 59-64.
- [23] Cannon JR, Tapias V, Na HM, et al. A highly reproducible rotenone model of Parkinson's disease [J]. *Neurobiol Dis*, 2009, 34(2):279-290.
- [24] Alam M, Mayerhofer A, Schmidt W. The neurobehavioral changes induced by bilateral rotenone lesion in medial forebrain bundle of rats are reversed by L-DOPA [J]. *Behav Brain Res*, 2004, 151(1-2): 117-124.
- [25] Brooks A, Chadwick C, Gelbard H, et al. Paraquat elicited neurobehavioral syndrome caused by dopaminergic neuron loss [J]. *Brain Res*, 1999, 823(1-2): 1-10.
- [26] Berry C, La Vecchia C, Nicotera P. Paraquat and Parkinson's disease [J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(7):1115-1125.
- [27] Shimizu K, Ohtaki K, Matsubara K, et al. Carrier-mediated processes in blood-brain barrier penetration and neural uptake of paraquat [J]. *Brain Res*, 2001, 906(1-2):135-142.
- [28] Czerniczyniec A, Karadayian AG, Bustamante J, et al. Paraquat induces behavioral changes and cortical and striatal mitochondrial dysfunction [J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 51(7): 1428-1436.
- [29] Day BJ, Patel M, Calavetta L, et al. A mechanism of paraquat toxicity involving nitric oxide synthase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(22):12760-12765.
- [30] McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat [J]. *Neurobiol Dis*, 2002, 10(2):119-127.
- [31] Rappold PM, Cui M, Chesser AS, et al. Paraquat neurotoxicity is mediated by the dopamine transporter and organic cation transporter-3 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(51): 20766-20771.
- [32] Manning-Bog AB, McCormack AL, Li J, et al. The herbicide paraquat causes up-regulation and aggregation of α -synuclein in mice paraquat and α -synuclein [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(3): 1641-1644.
- [33] Miller GW. Paraquat: the red herring of Parkinson's disease research [M]. London: Oxford University Press; 2007.
- [34] Thiruchelvam M, Brockel B, Richfield EK, et al. Potentiated and preferential effects of combined paraquat and maneb on nigrostriatal dopamine systems: environmental risk factors for Parkinson's disease? [J]. *Brain Res*, 2000, 873(2): 225-234.
- [35] Gash DM, Rutland K, Hudson NL, et al. Trichloroethylene: Parkinsonism and complex I mitochondrial neurotoxicity [J]. *Ann Neurol*, 2008, 63(2):184-192.
- [36] Beaudoin-Gobert M, Epinat J, Metereau E, et al. Behavioural impact of a double dopaminergic and serotonergic lesion in the non-human primate [J]. *Brain*, 2015, 138(9):2632-2647.

- [37] Verstraeten A, Theuns J, Van Broeckhoven C. Progress in unraveling the genetic etiology of Parkinson disease in a genomic era [J]. *Trends Genet*, 2015, 31(3):140-149.
- [38] Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, et al. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update [J]. *Hum Mutat*, 2010, 31(7):763-780.
- [39] Smith GA, Isacson O, Dunnett SB. The search for genetic mouse models of prodromal Parkinson's disease [J]. *Exp Neurol*, 2012, 237(2):267-273.
- [40] Potashkin J, Blume S, Runkle N. Limitations of animal models of Parkinson's disease [J]. *Parkinsons Dis*, 2011, 2011: 1-7.
- [41] Lim K-L, Ng C-H. Genetic models of Parkinson disease [J]. *Neuron*, 2009, 1792(7): 604-615.
- [42] Sharon R, Goldberg MS, Bar-Josef I, et al. α -Synuclein occurs in lipid-rich high molecular weight complexes, binds fatty acids, and shows homology to the fatty acid-binding proteins [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(16): 9110-9115.
- [43] Goedert M, Spillantini MG, Del Tredici K, et al. 100 years of Lewy pathology [J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(1): 13.
- [44] Lücking CB, Dürr A, Bonifati V, et al. Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene [J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(21):1560-1567.
- [45] Schulte C, Gasser T. Genetic basis of Parkinson's disease: inheritance, penetrance, and expression [J]. *Appl Clin Genet*, 2011, 4:67.
- [46] Dawson TM, Dawson VL. The role of parkin in familial and sporadic Parkinson's disease [J]. *Mov Disord*, 2010, 25(S1): S32-S39.
- [47] Matsuda N, Sato S, Shiba K, et al. PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy [J]. *J Cell Biol*, 2010, 189(2):211-221.
- [48] Narendra DP, Jin SM, Tanaka A, et al. PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin [J]. *PLoS Biol*, 2010, 8(1): e1000298.
- [49] Pouloupoulos M, Levy OA, Alcalay RN. The neuropathology of genetic Parkinson's disease [J]. *Mov Disord*, 2012, 27(7): 831-842.
- [50] Borghammer P. How does parkinson's disease begin? Perspectives on neuroanatomical pathways, prions, and histology [J]. *Mov Disord*, 2018, 33(1):48-57.
- [51] Bonifati V, Rizzu P, Van Baren MJ, et al. Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism [J]. *Science*, 2003, 299(5604): 256-259.
- [52] Chen L, Cagniard B, Mathews T, et al. Age-dependent motor deficits and dopaminergic dysfunction in DJ-1 null mice [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(22):21418-21426.
- [53] Kim RH, Smith PD, Aleyasin H, et al. Hypersensitivity of DJ-1-deficient mice to 1-methyl-4-phenyl-L-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) and oxidative stress [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(14): 5215-5220.
- [54] Dave KD, De Silva S, Sheth NP, et al. Phenotypic characterization of recessive gene knockout rat models of Parkinson's disease. *Neurobiology of disease* [J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 70:190-203.
- [55] Heinemann SD, Posimo JM, Mason DM, et al. Hutchison DF, Leak RK. Synergistic stress exacerbation in hippocampal neurons: Evidence favoring the dual-hit hypothesis of neurodegeneration [J]. *Hippocampus*, 2016, 26(8): 980-994.
- [56] Song LK, Ma KL, Yuan YH, et al. Targeted overexpression of α -synuclein by rAAV2/1 vectors induces progressive nigrostriatal degeneration and increases vulnerability to MPTP in mouse [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0131281.
- [57] Decressac M, Mattsson B, Björklund A. Comparison of the behavioural and histological characteristics of the 6-OHDA and α -synuclein rat models of Parkinson's disease [J]. *Exp Neurol*, 2012, 235(1): 306-315.
- [58] Campos FL, Carvalho MM, Cristóvão AC, et al. Rodent models of Parkinson's disease: beyond the motor symptomatology [J]. *Front Behav Neurosci*, 2013, 7: 175.
- [59] Lee EJ, Yoon HH, Park ES, et al. A novel animal model of parkinson's disease using optogenetics: representation of various disease stages by modulating the illumination parameter [J]. *Stereotact Funct Neurosurg*, 2018, 96(1): 22-32.
- [60] Yang W, Li S, Li XJ. A CRISPR monkey model unravels a unique function of PINK1 in primate brains [J]. *Mol Neurodegener*, 2019, 14(1): 17.

[收稿日期] 2019-11-27